

Departement für Pferde
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. med. vet. Anton Fürst, Dipl. ECVS

Musculoskeletal Research Unit (MSRU)
Leiterin: Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Dipl. ECVS

**Vergleichende Darstellung des Nandroloneffekts auf die
strukturelle Muskelveränderung des M. infraspinatus im
Schafmodell für Rotatorenmanschettenruptur zum Zeitpunkt der
Ruptur und chirurgischen RepARATION**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der
Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

Mario Christian Benn

Tierarzt
aus Hanau, Deutschland

genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Referentin

Prof. Dr. med. Dominik Meyer, Korreferent

Zürich 2015

Meiner Familie

Zusammenfassung.....	1
Summary	2
1 Einleitung.....	3
2 Literaturübersicht	5
2.1 Rotatorenmanschette.....	5
2.2 Krankheitsbild der Rotatorenmanschettenruptur & strukturelle Muskel- veränderungen	6
2.3 Muskelphysiologie.....	9
2.4 Muskelfaserveränderungen	12
2.5 Nandrolon.....	14
2.6 Tiermodell.....	15
3 Material und Methoden	16
3.1 Aufbau der Studie.....	16
3.2 Versuchstiere	17
3.3 Vorbereitung.....	18
3.4 Operationen	18
3.4.1 Operationsvorbereitung.....	18
3.4.2 Anästhesie	19
3.4.3 Lagerung und Desinfektion	20
3.4.4 Chirurgische Eingriffe	20
3.4.4.1 Tenotomie	20
3.4.4.2 Refixation	22
3.4.5 Postoperatives Management	23
3.4.5.1 Allgemein.....	23
3.4.5.2 Nandroloninjektionen	24
3.4.5.3 Nach Tenotomie	24

3.4.5.4	Nach Refixation	24
3.4.6	Euthanasie	25
3.5	Bildgebende Verfahren.....	25
3.5.1	Computertomographie	26
3.5.2	Magnetresonanztomographie.....	26
3.6	Probengewinnung und Probenaufbereitung	27
3.6.1	Muskelaufbereitung und Gewinnung der Kryobiopsien.....	27
3.6.2	Paraffinschnitte und Immunhistochemie	27
3.6.3	Kryoschnitte und Ölrotfärbung.....	29
3.7	Messungen.....	29
3.7.1	Bestimmung der Muskelgewichte und –volumina	29
3.7.2	Bildgebende Verfahren.....	30
3.7.2.1	Fiederungswinkel- und Muskelfaserbündellängenmessung	30
3.7.2.2	Muskelretraktion	30
3.7.3	Muskelhistologie	31
3.7.3.1	Muskelfaserdurchmesser	32
3.7.3.2	Histomorphometrie der Paraffinschnitte.....	33
3.7.3.3	Muskelfaserzählung.....	33
3.7.3.4	Muskelfaserquerschnittsfläche	34
3.7.3.5	Histomorphometrie der Kryoschnitte	34
3.7.3.6	Qualitative Beurteilung	35
3.8	Statistik.....	36
<hr/>		
4	Resultate.....	38
4.1	Körpergewicht	38
4.2	Operative Eingriffe.....	38
4.3	Postoperatives Management.....	39
4.4	Bildgebende Verfahren.....	39
4.4.1	Auswertung der Fiederungswinkel.....	40

4.4.1.1	Woche 0	40
4.4.1.2	Woche 6	41
4.4.1.3	Woche 16	41
4.4.1.4	Woche 22	41
4.4.2	Auswertung der Muskelfaserbündellängen	41
4.4.2.1	Woche 0	42
4.4.2.2	Woche 6	42
4.4.2.3	Woche 16	42
4.4.2.4	Woche 22	43
4.4.3	Auswertung der Muskelretraktion	43
4.5	Muskelgewichte und -volumina	43
4.6	Muskelhistologie	44
4.6.1	Auswertung der Muskelfasermessungen	44
4.6.1.1	Muskelfaserdurchmesser	44
4.6.1.2	Muskelfasergehalt pro Gesichtsfeld	45
4.6.1.3	Muskelfaseranzahl pro Gesichtsfeld	47
4.6.1.4	Muskelfaserquerschnittsfläche	48
4.6.2	Auswertung der Fettmessungen	49
4.6.2.1	Relativer Fettgehalt der Paraffinschnitte	49
4.6.2.2	Relativer Fettgehalt der Kryoschnitte	50
4.6.3	Auswertung der Bindegewebemessung	51
4.6.4	Qualitative Beurteilung	52
4.6.4.1	Fettvakuolen	52
4.6.4.2	Abnorme Muskelfasern	52
4.6.4.3	Innenkerne	52
4.6.4.4	Entzündungszellen im Interstitium	52
4.6.4.5	Intrazelluläre Parasiten	53
4.6.4.6	Technische Artefakte	53
5	Diskussion	54

Inhaltsverzeichnis

5.1	Methodenkritik	54
5.2	Resultate.....	58
5.3	Schlussfolgerung und Perspektiven	69
<hr/>		
6	Literaturverzeichnis	72
<hr/>		
7	Abkürzungsverzeichnis.....	78
<hr/>		
8	Anhang.....	80
8.1	Tabellen.....	80
8.2	Abbildungen	95

Danksagung

Lebenslauf

Zusammenfassung

Rupturen in der Rotatorenmanschette (RM) sind eine der häufigsten Erkrankungen des Schultergelenks. Oft erfolgt die Diagnose so spät, dass beteiligte Muskelstrukturen irreversibel verändert sind. Die Prognosestellung einer chirurgischen Sehnenrekonstruktion ist umso schlechter, je weiter die Strukturveränderungen fortgeschritten sind. Die Ursachen der strukturellen Schäden sind sehr komplex und noch nicht vollständig geklärt.

In dieser Studie wurde untersucht, ob die Behandlung mit einem anabolen Steroid (Nandrolon) die strukturellen Muskelveränderungen nach Ruptur der RM vermindern und/oder eine Muskelregeneration unterstützen kann. Für die Untersuchung wurde das Tierversuchsmodell der chronischen Sehnenruptur des M. infraspinatus in der RM des Schafes herangezogen. Initial wurde bei 18 Schafen eine chirurgische Sehnendurchtrennung beim Infraspinatus (ISP) durchgeführt. Nach 16 Wochen wurde die Sehne wieder chirurgisch fixiert und 6 Wochen später wurden alle Schafe euthanasiert. Zwei Gruppen erhielten wöchentlich intramuskuläre (M. quadriceps) Nandroloninjektionen: 6 Schafe direkt nach der Sehnendurchtrennung und 6 Schafe nach der Sehnenreparation. Die übrigen 6 Schafe dienten als Kontrolle.

Ab der Sehnendurchtrennung zeigte Nandrolon protektive Effekte auf die strukturellen Muskelveränderungen, während es ab der Reparation hauptsächlich die Muskelatrophie hemmt. Daraus lässt sich ein gewisses Potential ableiten, das zur Etablierung für den Behandlungseinsatz bei Rupturen der Rotatorenmanschette oder anderen degenerativen Muskelerkrankungen weiterführend erforscht werden sollte.

Summary

Rotator cuff tear (RCT) is one of the most common disorders of the shoulder joint. Mild or no clinical symptoms lead to delayed diagnosis of RCT but structural changes of the involved muscles become quickly irreversible. However, late diagnosis and treatment worsen the prognosis. The causes of the structural damage are very complex and yet not fully understood.

The purpose of this study was to investigate whether the treatment with an anabolic steroid (nandrolone) reduces the structural muscular changes after tear of the rotator cuff tendon and / or supports muscle regeneration.

For this investigation an animal model of chronic tear and retraction of the infraspinatus muscle (ISP) in sheep was used. Initially the infraspinatus tendon was cut to reproduce a RCT in 18 sheep. After 16 weeks, the tendons were surgically repaired and six weeks later all sheep were sacrificed. Two groups received weekly intraquadriceptal injections of nandrolone: six sheep immediately after tendon release and six sheep after repair. The remaining six sheep served as control.

Nandrolone application after tendon release showed protective effects on the muscle quality whereas nandrolone after repair supported reversion of muscle atrophy. This study shows that nandrolone has a certain potential to support both the prevention and regeneration of the hitherto irreversible muscle changes occurring after tendon tears.

1 Einleitung

Die Rotatorenmanschettenruptur ist eine der häufigsten Erkrankungen des Schultergelenks und tritt bei fast 60 % der über 60-jährigen Patienten auf. Die partielle oder auch vollständige Rotatorenmanschettenruptur verläuft bei vielen Patienten symptomlos [1], sodass eine Diagnose häufig zu spät erfolgt. Unglücklicherweise gibt es einen Zeitpunkt, ab dem der durch die Ruptur ausgelöste Strukturveränderungsprozess unumkehrbar ist und in der Folge auch nach chirurgischer Operation die Muskelfunktionalität nicht komplett wiederhergestellt werden kann [2]. Diese strukturellen Veränderungen sind von grosser klinischer Relevanz, da sie mit Operationsversagen der chirurgischen Sehnenreposition korrelieren [3-6]. Daher ist es Gegenstand aktueller Forschung Behandlungsmöglichkeiten zu entwickeln, um in Zukunft diese pathophysiologischen Strukturveränderungen wie Atrophie, fettige Infiltration, Fiederungswinkel- und Faserlängenveränderung sowie Muskelretraktion reversibel zu machen und/oder ihr Vorkommen zu reduzieren.

Mit dieser Studie soll unter anderem gezeigt werden, dass der von Gerber et al. im Kaninchenmodell gefundene Verminderungseffekt der fettigen Degeneration und Muskelretraktion durch Nandrolon auch in einer höheren Spezies nachgewiesen werden kann [7]. In einer Studie von Wieser et al. wurde dargestellt, dass lokale Nandroloninjektionen keine Auswirkungen auf die strukturellen Veränderungen im Muskel haben [8]. Da Nandrolon in anderen Studien vielversprechende Wirkungen zeigte, sollte weiterführend die Wirkung von generalisierter Nandrolonanwendung untersucht werden. Anknüpfend war es auch Ziel der Studie zu untersuchen, ob Nandrolon bereits einen schützenden Effekt auf die Phase der strukturellen Muskelveränderungen hat, weshalb eine Behandlung bereits ab dem Zeitpunkt der chirurgischen Sehnen-trennung erfolgte. Des Weiteren sollte untersucht werden, ob die Nandrolonbehandlung ab dem Zeitpunkt der chirurgischen Reparat ion einen unterstützenden Effekt auf die Regenerationsphase aufweist.

Da die Mechanismen der fettigen Infiltration und Atrophie sehr komplex und noch nicht genau geklärt [9] sind, sollte mit dieser Studie das grundlegende Verständnis auf diesem Gebiet erweitert werden. Trotz intensiver Bemühungen konnte bisher noch keine vollständige anatomische und funktionelle Wiederherstellung der strukturell veränderten Muskulatur erfolgen, was ergänzend die Notwendigkeit von weiterer grundlegender Forschung im Bereich der Rotatorenmanschette, aber auch in Übertragung auf andere degenerative Muskelerkrankungen, verdeutlicht [7].

2 Literaturübersicht

2.1 Rotatorenmanschette

Die Rotatorenmanschette ist eine Gruppe von Muskeln des Schultergelenks, die aus dem M. infraspinatus, M. supraspinatus, M. subscapularis und M. teres minor besteht. Das Schultergelenk ist ein Kugelgelenk und wird gebildet aus der Gelenkfläche des Oberarmkopfes (Caput humeri) und der Gelenkpfanne des Schulterblattes (Cavitas glenoidalis, *auch* Glenoid), den statischen Stabilisatoren (Gelenkpfannenlippe (Labrum glenoidale), Gelenkkapsel, Bänder) sowie den dynamischen Stabilisatoren (Rotatorenmanschettenmuskulatur, M. deltoideus, Stabilisatoren des Schulterblattes) [10]. Die relativ kleine glenoidale Gelenkpfanne steht nur mit 25 – 30 % der Gelenkfläche des Humeruskopfes in Kontakt [11], sodass der gesamte Bewegungsbogen stark von den beteiligten Stabilisatoren abhängt, aber gleichzeitig eine extreme Mobilität des Oberarmes ermöglicht wird. Die Rotatorenmanschette unterstützt neben der Stabilisierung des Humeruskopfes im Glenoid auch die dynamische Steuerung des Humerus [12]. Die Schädigung bereits mindestens einer der statischen oder dynamischen Komponenten kann eine Funktionsbeeinträchtigung der Schulterbewegung verursachen.

Beim Menschen ist die Mobilisierung des Armes in allen drei Ebenen und Achsen möglich. Die meisten vierbeinigen Säugetiere können nur eingeschränkte Abspreiz- und Heranführungsbewegungen (Abduktion und Adduktion) durchführen. Aufgrund der anatomischen Anordnung der Muskeln fungiert daher das Schultergelenk im Schaf hauptsächlich als Scharniergelenk zur Flexion und Extension [13].

Alle Untersuchungen dieser Studie wurden am M. infraspinatus (ISP) durchgeführt. Die Infraspinatusmuskulatur ist Teil eines etablierten Modells zur Untersuchung der Sehnenruptur an der Rotatorenmanschette und wurde schon in zahlreichen Studien zur Untersuchung herangezogen [7, 8, 14-20].

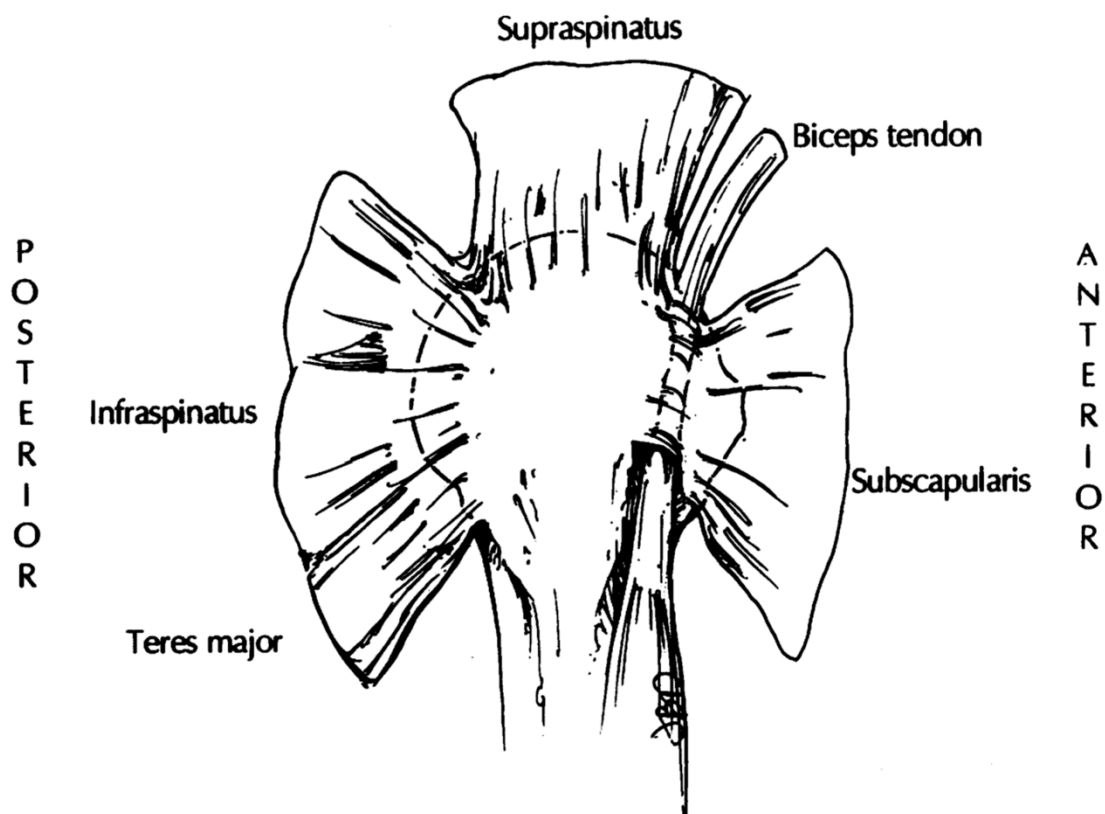


Abb. 1: Ansatzstellen der Rotatorenmanschettenmuskeln (Mensch), aus [12]

2.2 Krankheitsbild der Rotatorenmanschettenruptur & strukturelle Muskelveränderungen

Eine der häufigsten Erkrankungen des Schultergelenks sind Schädigungen in der Rotatorenmanschette (RM), wobei alterungs- und verschleissbedingte Schäden überwiegen [21]. Magnetresonanztomographisch zeigten sich in fast 60 % der über 60 jährigen Patienten RM-Rupturen, die sehr häufig ohne deutliche Symptome auftreten [1]. Mit fortschreitendem Alter finden progressive Degenerationsvorgänge in der Rotatorenmanschette meist über Infraspinatus- oder Supraspinatusbeteiligung statt, die zu vollständigen oder teilweisen RM-Rupturen führen können [3].

In den meisten Fällen ist der Auslöser für eine RM-Schädigung eine Kombination aus vaskulären, degenerativen, traumatischen und/oder mechanisch-anatomischen Ursachen [22]. Die Hälfte aller Rupturen der Supra- und Infra-

spinatussehne haben eine vorbestehende Degeneration zugrunde liegen und häufig lässt erst ein akutes Trauma die RM-Ruptur klinisch in Erscheinung treten [23]. Kleinere Sehnenrupturen werden bei älteren Patienten meist asymptomatisch beobachtet, während grössere Rupturen bei jüngeren Menschen symptomatisch im Arbeitsalter auffallen [1, 24]. Veränderungen der RM werden mit steigendem Alter häufiger, können aber bereits zwischen 30-40 Jahren auftreten [25].

RM-Rupturen können operativ mittels offener [3] und arthroskopischer Rekonstruktion [26] oder konservativ [27] therapiert werden. Als Hauptindikation für operative Verfahren gelten Schmerzen und Funktionseinschränkungen [21]. In Folge einer RM-Sehnenruptur kommt es zu strukturellen Veränderungen der beteiligten Muskulatur. Dazu zählen Retraktion der Muskelsehneneinheit [17, 28, 29], Muskelverfettung [14, 16, 30-33], Atrophie [14, 34-36] und Fibrose der Muskulatur [14, 37] sowie Elastizitätsverminderung [38].

Gerber et al. konnte im Tierversuchsmodell der RM-Ruptur am Schaf zeigen, dass sich 16 Wochen nach der ISP-Ansatzsehnendurchtrennung eine Retraktion von 29 mm einstellte und dass sich der Fiederungswinkel von 30° auf 55° erhöhte [39]. Daher ist die vermeintliche Muskeldegeneration vielmehr als eine Verkürzung von gesundem Muskelgewebe zu verstehen und keine Zelldegeneration im eigentlichen Sinne [14, 16, 40, 41]. Das wurde durch die Untersuchungen von Steinbacher et al. bestätigt, da er zeigen konnte, dass die Atrophie durch Verringerung des absoluten Muskelfaservolumens hervorgerufen wurde und nicht durch Faseruntergang [31].

Die Ursache für die Muskelretraktion der Muskelsehneneinheit liegt hauptsächlich in der Verkürzung der Muskelfaserbündel [28]. Meyer et al. konnte zeigen, dass sich nach RM-Ruptur mit anschliessender Muskelretraktion der Fiederungswinkel erweitert und ein freier Raum zwischen den Muskelfaserbündeln entsteht, in den Fett eingelagert wird [16]. Der Grad der fettigen Infiltration erhöht sich im Laufe der Zeit [14]. Im Supraspinatusmuskel des

Menschen konnte Fett sowohl interstitial als auch intrazellulär nachgewiesen werden [31]. Die Muskelmechanik wird durch die Fetteinlagerung eingeschränkt [14, 16]. Es wurde beobachtet, dass der Grad der fettigen Infiltration mit dem Schweregrad der RM-Ruptur korreliert [40, 42]. In einer Kaninchenstudie am M. supraspinatus erreichte die fettige Infiltration nach sechs Wochen ihr Maximum [43]. Der Grad der fettigen Infiltration korreliert mit der Muskelretraktion beim Menschen [29]. Gerber et al. konnte in einer weiteren Schafstudie zeigen, dass die fettige Infiltration positiv mit der Muskelsehnenretraktion korreliert. Ausserdem konnte im Zeitverlauf gezeigt werden, dass zuerst das perimysiale Fett und anschliessend das endomysiale Fett ansteigt [14]. Daneben korreliert die Zunahme der fettigen Infiltration auch mit der Verringerung der Kraft des Muskels [29, 35]. Bereits nach wenigen Wochen sind die fortschreitenden strukturellen Veränderungen von fettiger Infiltration und Atrophie auch nach operativer Reposition der ISP-Ansatzsehne irreversibel [14, 16, 35]. Der Operationserfolg ist sowohl von der Atrophie als auch vom Grad der fettigen Infiltration abhängig, was weiterhin die Notwendigkeit für das grundlegende Verständnisses dieser Veränderungen verdeutlicht [6, 14, 29]. Aufgrund fettiger Infiltration ist die Maximalkraft des Muskels verringert [44]. Meyer et al. zeigten in einer Schafstudie, dass chronische Sehnenrupturen in der RM nicht nur mit Muskelretraktion, fettiger Infiltration und Atrophie einhergehen, sondern auch mit einer Verringerung der Kraft- und Kontraktionsamplitude [45]. Die RepARATION von chronisch vollständigen RM-Rupturen geht mit einem hohen Risiko für operativen Misserfolg einher [46-48]. Eine erfolgreiche operative Rekonstruktion ist unwahrscheinlich, wenn der sogenannte „point of no return“ überschritten ist und bereits gravierende strukturelle Veränderungen vorliegen [2, 38]. Da die Schmerzwahrnehmung der Patienten nicht in Beziehung zu der Stärke der Muskelveränderungen steht, erfolgt die Diagnose häufig zu spät [2]. Daher ist es Gegenstand aktueller Forschung Behandlungsmöglichkeiten zu entwickeln, um in Zukunft diese

pathophysiologischen Veränderungen wie Atrophie, fettige Infiltration und Muskelretraktion reversibel zu machen oder ihr Vorkommen zu minimieren.

2.3 Muskelphysiologie

Im Menschen und in allen anderen Säugetieren unterscheidet man zwischen glatter und quergestreifter Muskulatur. Die glatte Muskulatur bildet die kontraktile Einheit in Hohlorganen wie beispielsweise in den Arterien zur Blutdruckregulation oder im Verdauungsapparat zum Weitertransport von Nahrungsbrei. Die quergestreifte Muskulatur lässt sich in Herz- und Skelettmuskulatur unterteilen. Im Folgenden wird näher auf die in dieser Dissertation relevante Skelettmuskulatur eingegangen, die einen essentiellen Bestandteil im Bewegungsapparat darstellt und Stütz-, Halte- und Bewegungsfunktionen umsetzt [49].

Beim Skelettmuskel handelt es sich um einen strukturierten Gewebeverband aus Muskelproteinen, Fett, Bindegewebe, Blutgefässen und Nerven. Um die Bewegungs- und Stützfunktionen im Bewegungsapparat ausführen zu können, sind die Muskeln im Allgemeinen über Sehnen mit den Skelettknochen an anatomisch funktionellen Lokalisationen verwachsen. Über das Zusammenspiel verschiedener Muskelkontraktionen kann so beispielsweise die Bewegung zweier über ein Gelenk verbundenen Knochen hervorgerufen werden.

Der komplette Muskelbauch eines Skelettmuskels wird von Bindegewebe umfasst (Epimysium), das einen fließenden Übergang in die umgebende Muskelfaszie darstellt. Vom Epimysium ziehen einzelne bindegewebige Lagen ins Innere des Skelettmuskels und umschließen die einzelnen Muskelfaserbündeln (Perimysium). Innerhalb eines Muskelfaserbündels sind die einzelnen Muskelfasern wiederum von Bindegewebe umfasst (Endomysium) und können beispielsweise im Menschen im M. sartorius bis zu 30 cm lang werden [50]. Eine Muskelfaser ist aus einem Zusammenschluss mehrerer Muskelvorläufer-

zellen (Myoblasten) entstanden und bildet ein sogenanntes Syncytium, das mehrere randständige Zellkerne enthält.

Innerhalb einer Muskelfaser verlaufen zahlreiche Myofibrillen (fadenförmige Proteinstrukturen) parallel, die aus einer Vielzahl seriell angeordneten funktionellen Kontraktionseinheiten, den sogenannten Sarkomeren, bestehen. Ein Sarkomer ist die kleinste funktionelle Einheit einer Myofibrille. Ein Sarkomer besteht aus einzelnen Proteinfäden, den sog. Aktin- und Myosinfilamenten (etwa 30 % Aktin und 70 % Myosin [49]), die sich zwischen den Z-Scheiben aufspannen. In nicht kontrahiertem Zustand ist der Abstand zwischen den Z-Scheiben etwa 2 – 2.5 μm . Diese regelmässige Struktur wiederholt sich längs der Myofibrille über die gesamte Länge. Aufgrund der Anordnung entsteht ein Bereich in dem sich Aktin- und Myosinfilamente überlappen (sog. A-Bande) und ein Bereich in der lediglich die Myosinfilamente und die Z-Scheiben zuliegen kommen (sog. I-Bande). Aufgrund des Unterschieds der optischen Dichte zwischen A- und I-Bande entsteht im mikroskopischen Bild eines längsgeschnittenen Muskels die typische Querstreifung [51].

Bei der Muskelkontraktion gleiten nach der Filamentgleittheorie nach Huxley et al. [52, 53] die Aktin- und Myosinfilamente ineinander und rufen eine Sarkomerverkürzung hervor, ohne ihre eigene Länge zu verändern. Die Summe aller Sarkomerverkürzungen ist makroskopisch in der Verkürzung bzw. Kontraktion des gesamten Muskels sichtbar. Im angewandten Modell der RM-Ruptur ist unter anderem eine Muskelfaserverkürzung zu beobachten [54]. Baker et al. konnte zeigen, dass bei der Verkürzung von Muskelfasern die Verminderung der Sarkomeranzahl eine Rolle spielt [55].

Skelettmuskelgewebe besteht aus verschiedenen Muskelfasertypen und unterliegt einer nervalen Steuerung durch motorische Steuereinheiten. In der Skelettmuskulatur werden mindestens drei Typen von motorischen Steuereinheiten unterschieden, die mit ihrer Muskelfaserinnervation die entsprechenden Fasertypen von Typ I-, Typ IIa- und Typ IIb-Fasern definieren [56].

Typ I-Fasern werden auch als sogenannte langsam zuckende oxidative Fasern (engl. „slow twitch oxidative (SO)“) bezeichnet. Ihre Farbe ist tiefrot aufgrund des hohen Myoglobingehalts zur Sauerstoffbindung und der grossen Anzahl an Mitochondrien. Daher sind sie sehr resistent gegenüber Ermüdung und in der Lage zahlreiche Kontraktionswiederholungen allerdings nur mit geringer Kraft durchzuführen. Sie produzieren Energie (ATP) sauerstoffabhängig (aerober Kreislauf). Aufgrund ihrer hohen Ausdauer dienen Typ I-Fasern hauptsächlich den Halte- und Stützfunktionen und kommen vermehrt in Muskeln vor, die diese Funktionen anatomisch umsetzen [10, 49, 57].

Typ II-Fasern können in Typ IIa- und IIb-Fasern unterteilt werden. Typ IIb-Fasern werden auch als schnell zuckende glykolytische Fasern (engl. „fast twitch glycolytic (FG)“) bezeichnet. Aufgrund ihrer geringen Myoglobinkonzentration sind sie sehr hell (ugs. „weisse Muskulatur“) und enthalten nur wenige Mitochondrien. Über einen sauerstoffunabhängigen Metabolismus (anaerober Kreislauf) können sie nur eine geringe Menge Energie (ATP) produzieren, die schnell verbraucht ist. Daraus resultiert, dass die Typ IIb-Fasern sehr schnell hohe Kräfte mobilisieren können und allerdings auch rasch ermüden. Diese Fasern kommen vermehrt in Muskeln von schneller Bewegung vor (z.B. Gliedmassenbeuger/-strecker) [10, 49, 57].

Typ IIa-Fasern werden auch als schnell zuckende oxidative und glykolytische Fasern (engl. „fast twitch oxidative/glycolytic (FOG)“) bezeichnet und stellen einen Hybriden aus Typ I- und Typ IIb-Fasern dar. Sie enthalten eine hohe Anzahl an Mitochondrien und Myoglobin, weshalb auch sie eine sehr rote Farbe haben. Über sowohl aeroben als auch anaeroben Metabolismus produzieren sie ATP in einer hohen Konzentration um schnelle und starke Muskelkontraktionen zu produzieren. Sie ermüden schneller als Typ I-Fasern aber langsamer als Typ IIb-Fasern. Krafttraining kann Typ IIb-Fasern in Typ IIa-Fasern umwandeln, indem der oxidative Kreislauf verfügbar gemacht wird.

Unter Trainingsbedingungen kommt es zu einer langsam-zu-schnell-Verschiebung. Aufgrund von energetischer Effizienz konvertieren Typ IIb-Fasern unter Trainingsbedingungen in Typ IIa-Fasern [49, 57].

2.4 Muskelfaserveränderungen

Genetische Erkrankungen, muskuläre Dystrophien oder die fehlende mechanische Stimulation nach Sehnenruptur oder Nervenschädigung oder tumorbedingten Erkrankungen sind die häufigsten Ursachen für muskulären Untergang, wobei dieser strukturell sehr inhomogen verläuft. Beispielsweise findet in durch Nervenschädigung bedingte Muskelatrophie typischerweise eine Verschiebung von langsamen zu schnellen Muskelfasertypen statt, wohingegen sich bei tumorbedingter Atrophie ein umgekehrtes Muster zeigt. Die Untersuchung der genauen Fasertypenprofile sowie die Signalwege des Muskeluntergangs der verschiedenen Muskeltypen können helfen die zugrunde liegenden Ursachen der verschiedenen Krankheitsbilder besser zu verstehen und neue Behandlungsmethoden davon abzuleiten [58].

Die meisten Muskelerkrankungen (Myopathien) zeigen eine zufällige Anordnung von atrophischen und hypertrophischen Typ I- und Typ II-Muskelfasern. Die Typ II-Faseratrophie ist ein nicht spezifischer Befund und kommt in einer Vielzahl von Myopathien vor, tritt bei Nichtgebrauch auf oder kann durch Kortikosteroidbehandlung induziert werden. Typ I-Faseratrophie ist ebenfalls wenig spezifisch und tritt bei verschiedenen kongenitalen Myopathien auf. Fasertypspezifische Hypertrophie ist weniger häufig als fasertypspezifische Atrophie. Typ II-Faserhypertrophie ist häufig vergesellschaftet mit Typ I-Faseratrophie. Die Hypertrophie bedingt durch Muskeltraining ist üblicherweise in Typ II-Fasern zu sehen, wobei physiologisch im männlichen Muskel Typ II-Fasern grösser sind als Typ I-Fasern und im weiblichen Muskel beide Fasertypen ähnliche Grösse aufzeigen. [59, 60]

Für die Interpretation der strukturellen Veränderungen sowie den physiologischen und pathologischen Vorgängen in der Muskulatur ist die Bestimmung der Fasergrösse eine essentielle Methode. Sie wird beeinflusst durch Innervation, zahlreiche Wachstumsfaktoren und der Arbeit, die ein Muskel verrichten muss, sodass sie nach grosser Belastung zunehmen (Hypertrophie) während sie nach Ruhigstellung oder Schonung abnimmt (Atrophie). Die Fasergrössen nehmen auch ab, wenn die nervale Innervation getrennt wird. Wenige kleinere Fasern in einer Biopsie können ein Anzeichen für Regeneration sein und müssen von atrophischen Fasern unterschieden werden. Pathologische Faseratrophie erfolgt homogen verteilt, während Atrophien aufgrund einer Nerventrennung in kleinen oder grossen Fasergruppen auftreten, je nach Grösse des Versorgungsgebietes des durchtrennten Nervens. Bei manchen neurogenen Störungen können gleichzeitig mit der Faseratrophie kleiner oder grosser Fasergruppen auch eine diffuse Faserhypertrophie von Einzelfasern oder sogar Fasergruppen auftreten. [59]

Das Verhältnis zwischen Typ I- und Typ II-Fasern ist in vielen Muskeln je nach Funktion verschieden und wird von zahlreichen Faktoren beeinflusst. Muskelatrophie aufgrund von Denervation, fehlender mechanischer Belastung, Bettruhe, Rückenmarksverletzungen oder mangelndem Erdanziehungseinfluss führen häufig zu einer Verschiebung von langsamen zu schnellen Muskelfasern meist in Verbindung mit einer Atrophie der langsamen Muskelfasern. Daneben führen Atrophie aufgrund von Unterernährung, Behandlung mit Glukokortikoiden, bei einer Sepsis oder kanzerogener Kachexie zu einer Verschiebung von schnellen zu langsamen Muskelfasern [58, 61]. Ursächlich für die Umstrukturierung der Fasertypen kommen Veränderungen in den motorischen Steuereinheiten der Muskelfasern in Betracht. Larsson et al. hat diesbezüglich von altersabhängigen Verschiebungen der motorischen Steuerneuronen berichtet [62].

Zentrale Zellkerne werden im Skelettmuskel als Innenkerne bezeichnet und können in Verbindung mit einem variablen Muskelfaserdurchmesser Rückschlüsse auf chronische Muskelveränderungen zulassen [63]. Degenerierte Muskelfasern stellen sich klassischerweise im Vergleich zu den anderen Fasern blass gefärbt dar. Dieser Färbungsunterschied kann den Untergang einer Muskelfaser anzeigen, die im nächsten Stadium von zahlreichen Phagozyten aufgenommen wird. Muskelveränderungen sind häufig mit vermehrter Bindegewebeeinlagerung und Fettgewebe vergesellschaftet und können als Folge zahlreicher Muskelerkrankungen auftreten. Beide Gewebetypen können sich sowohl im Peri- als auch im Endomysium vermehren [59].

2.5 Nandrolon

Das in dieser Studie verwendete Deca-Durabolin® (50 mg/ml, MSD Merck Sharp & Dohme AG, Luzern, Schweiz) enthält den Wirkstoff Nandrolon-decanoat. Nandrolon (19-Nortestosteron) ist ein anaboles Steroid und Decanoat verlängert die Wirkungszeit nach intramuskulärer Injektion. Als Testosteronderivat ist es neben medizinisch indizierten Anwendungen auch bei Kraftsportlern weit verbreitet. Bei supraphysiologischer Dosierung (600mg/Woche) führt Nandrolon zu einer Erhöhung der fettfreien Körpermasse, einer Verstärkung der Muskelkraft und einer Vergrößerung des Muskelvolumens [64] über Hypertrophie sowohl der Typ I- als auch der Typ II-Fasern [65]. Aufgrund zahlreicher Nebenwirkungen auf Herz-Kreislaufsystem, Prostata, Fett- und Insulinstoffwechsel sowie endokrinen Störungen wird von einem Missbrauch im Kraftsportbereich abgeraten. Die therapeutische Anwendung von Nandrolon kann allerdings bei Patienten mit chronischem Muskelschwund z.B. bedingt durch Immobilisation [64], Kachexie [64], Gravitationsentzug [64] oder bei postmenopausaler Osteoporose [66, 67] indiziert sein und unter genauer Abwägung der Nebenwirkungen sowie medizinischer Kontrolle angewendet werden.

Die Erhöhung der fettfreien Körpermasse, die Verstärkung der Muskelkraft und die Vergrößerung des Muskelvolumens durch anabole Steroide kann im Menschen dosisabhängig mit oder ohne Training erfolgen [68]. Anabole Steroide wurden bereits in anderen Studien im Schafmuskel angewendet [69]. Gerber et al. konnte im Tierversuch am Kaninchen zeigen, dass Nandrolon die fettige Infiltration des Supraspinatus verhindert und die funktionelle Beeinträchtigung durch Muskelsehnenretraktion vermindert [7].

2.6 Tiermodell

Im Tierversuchsmodell eignen sich Schafe als Tierart besonders, weil sie gut verfügbar sind, komplikationsfrei gehalten werden können und die Tier- und Haltungskosten in einem vertretbaren Rahmen liegen. Da das Schaf auch als Nutztier weit verbreitet Verwendung findet, ist es als Versuchstier gesellschaftlich anerkannter als zahlreiche andere Spezies [70].

Aufgrund vergleichbarer Charakteristika des M. supraspinatus im Menschen mit dem M. infraspinatus im Schaf wurde das Schaf bereits in früheren Studien als Tierversuchsmodell herangezogen [71].

Obwohl das Schaf in seiner evolutionären Entwicklung dem Menschen näher steht als beispielsweise die Ratte oder das Kaninchen, birgt dieses Tierversuchsmodell dennoch Grenzen aufgrund physiologischer und anatomischer Unterschiede [72], sodass eine Übertragung der Erkenntnisse auf den Menschen nur mit Sorgfalt erfolgen sollte. Dennoch handelt es sich bei dem Tierversuchsmodell zur Untersuchung der Veränderungen der RM um ein etabliertes Modell, das schon in zahlreichen anderen Studien Anwendung fand [7, 8, 14-20].

3 Material und Methoden

3.1 Aufbau der Studie

Die experimentelle Studie wurde mit dem Tierversuchsmodell für chronische Sehnenruptur und Retraktion des M. infraspinatus (ISP) im Schaf durchgeführt und diente zur Untersuchung des Effekts generalisierter Nandroloninjektionen auf die Muskeldegeneration und -regeneration. Hierfür wurden 18 Versuchstiere gleichmässig auf drei Gruppen verteilt (vgl. Abb. 2).

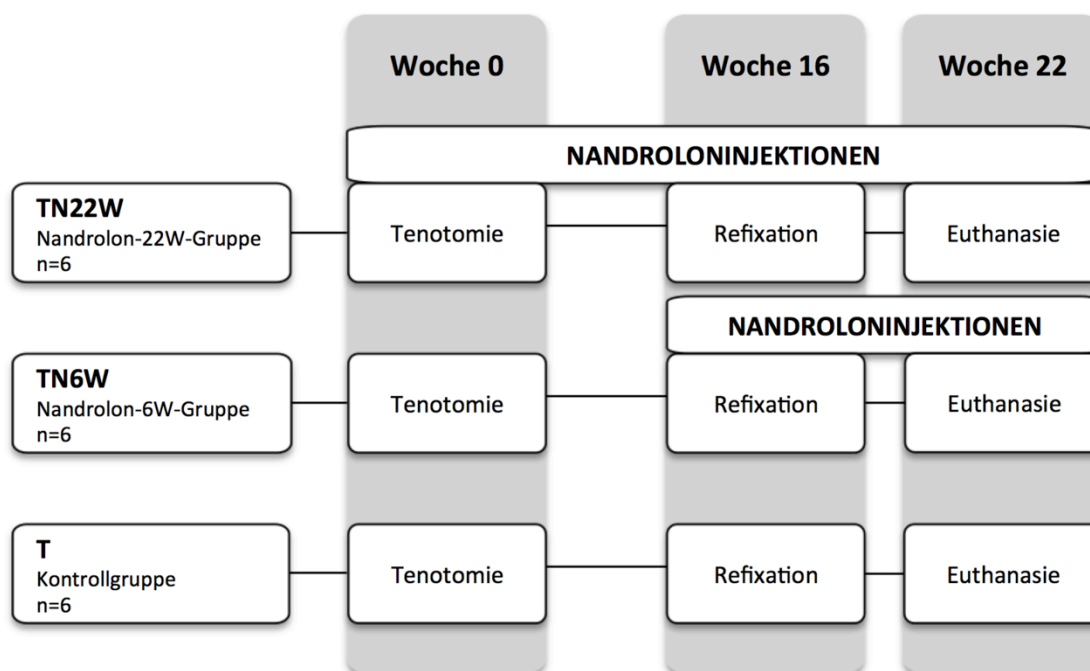


Abb. 2: Gruppenübersicht

Initial wurde bei allen Tieren die Ansatzsehne (Tenotomie = Woche 0) des M. infraspinatus vom Humeruskopf der rechten Vordergliedmasse getrennt und nach 16 Wochen wieder fixiert (Refixation = Woche 16). Nach weiteren 6 Wochen wurden die Tiere euthanasiert und Muskelproben entnommen (Euthanasie = Woche 22). 6 Tiere erhielten wöchentliche Nandroloninjektionen ab Woche 0 (Nandrolon-22W-Gruppe = TN22W), weitere 6 Tiere ab Woche 16 (Nandrolon-6W-Gruppe = TN6W) und die restlichen 6 Tiere dienten als Negativkontrolle und erhielten kein Nandrolon (Kontrollgruppe = T).

Alle Tierversuche wurden unter den Bestimmungen des Schweizer Tierschutzgesetzes durchgeführt. Die entsprechende Tierversuchsbewilligung läuft im kantonalen Veterinäramt unter der Nummer 72/2013.

3.2 Versuchstiere

Vor Beginn der Studie wurden aus der Herde eines externen Betriebes (Staffelegg AG, Küttigen, Schweiz) 40 weisse Alpenschafe als Versuchstiere ausgewählt. 18 Tiere wurden zur Beantwortung anderer Forschungsfragen im Rotatorenmanschettenmodell verwendet, die in späteren Publikationen bearbeitet werden. 4 Tiere dienten als Reserve und die übrigen 18 Tiere wurden zur Durchführung der vorliegenden Studie verwendet.

Beim Ankauf wurde jedes Tier im Rahmen einer allgemeinen Untersuchung auf Abnormalitäten an Haut, Mandibularlymphknoten, Schleimhäuten, kapilläre Rückfüllzeit, Körpertemperatur, Herzkreislaufsystem, Atmungssystem, Verdauungstrakt, Bewegungsapparat, Genitalien und Zentralnervensystem untersucht. In die Studie wurden nur Tiere ohne pathologischen Veränderungen aufgenommen. Zum Zeitpunkt der ersten OP lag das Durchschnittsalter der Tiere bei etwa 2 Jahren und das Durchschnittsgewicht bei 46.77 ± 3.73 kg (vgl. Tab. 12). Alle Schafe waren weiblich, nichttragend und gegen Clostridien und Pasteurelleninfektionen (Ovilis® Heptavac P ad us. vet., 2 ml/Tier s.c., Veterinaria AG Zürich, Schweiz) sowie gegen Moderhinke (Footvax® ad us. vet., 1ml/Tier s.c., MSD Animal Health GmbH, Luzern, Schweiz) geimpft. Ausserdem wurden alle Tiere vor Ankauf und während der Studie mit einem wechselnden Regime aus Praziquantel (Cestocur®, 3.75 mg/kg KGW p.o., Provet AG, Lyssach b. Burgdorf, Schweiz), Triclabendazol + Levamisol (Endex® 19.5 %, 0.2 ml/kg KGW p.o., Novartis Tiergesundheit AG, Basel, Schweiz), Netobimin (Hapadex® 5 %, 0.4 ml/kg KGW p.o., MSD Animal Health GmbH, Luzern, Schweiz) und Moxidectin (Cydectin® 0.1 %, 0.2 ml/kg KGW p.o., Zoetis Schweiz GmbH, Zürich, Schweiz) regelmässig gegen Parasitenbefall behandelt.

Alle eingesetzten Schafe wurden auf Maedi-Visna getestet (Prüfstelle Institut für Veterinärvirologie, Bern, Schweiz) und waren serologisch negativ. Regelmässig wurde bei allen Tieren Klauenpflege betrieben und die Schafe wurden jeweils im Herbst und Frühjahr geschoren. Die Gruppenzuordnung wurde randomisiert durchgeführt (vgl. Tab. 12.).

3.3 Vorbereitung

Die Tiere wurden zwecks Eingewöhnungsphase mindestens 8 Tage vor dem ersten Eingriff zu den Stallungen des Tierspitals transportiert. Bei jedem Tier wurde eine allgemeine Untersuchung durchgeführt und das Gewicht ermittelt. Die Tiere wurden vor dem Eingriff stets in Kleingruppen mit minimal 4 Tieren auf Stroh und Späne gehalten. Zweimal täglich wurden sie mit Heu gefüttert und tierärztlich überwacht. Drei Tage vor dem Eingriff wurde den Tieren über die Jugularvene mittels Vacutainer-System (BD Vacutainer Collection System, Belliver Industrial Estate, Plymouth, Vereinigtes Königreich) Blut entnommen und hämatologisch sowie blutchemisch untersucht. 24 Stunden vor dem Eingriff wurde den Tieren das Futter und Stroh entzogen und nur Späne eingestreut. Wasser stand ihnen immer zur freien Verfügung.

3.4 Operationen

3.4.1 Operationsvorbereitung

An jedem Operationstag wurde das zu operierende Schaf nach allgemeiner Untersuchung 30 Minuten vor Anästhesieeinleitung mit Buprenorphin (Temgesic®, 0.01 mg/kg KGW, Essex Chemie AG, Luzern, Schweiz) und Xylazin (Xylazin® Streuli ad us. vet., 0.1 mg/kg KGW, Streuli Pharma AG, Uznach, Schweiz) intramuskulär sediert. Nach Wirkungseintritt wurde das Schaf in den Operationssaal transportiert und unter sterilen Bedingungen wurde in die rechte V. jugularis ein Venenverweilkatheter (BD Angiocath®, 14 GA, Becton, Dickinson AG, Schweiz) gelegt und mit Einzelheften aus resorbierba-

rem Nahtmaterial (Supramid 2/0 3metric, Braun, Aesculap AG & CO.KG, Tuttlingen, Deutschland) fixiert. Der Katheter wurde mit einem IN-Stopper (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) verschlossen. Vor Anästhesieeinleitung bekam jedes Schaf prophylaktisch Benzylpenicillin (Procain-Penicillin Natrium Streuli ad us vet., 30000 I.E./kg KGW, G. Streuli & Co AG, Uznach, Schweiz) und Gentamicin (Vetagent® ad. us., 4 mg/kg KGW, Veterinaria AG, Zürich, Schweiz) als Antibiose und zur analgetischen und antiphlogistischen Versorgung Carprofen (Rimadyl®, 4 mg/kg KGW, Pfizer AG, Vertrieb Dr. Gräub, Zürich, Schweiz) intravenös injiziert.

3.4.2 Anästhesie

Die Anästhesieeinleitung wurde mittels intravenöser Injektion von Diazepam (Valium®, 0.1 mg/kg KGW, Roche Pharma AG, Rheinach, Schweiz), Ketamin (Narketan 10®, 3 mg/kg KGW, i.v., Vetoquinol AG, Belp-Bern, Schweiz) und Propofol (Propofol® 1 % MCT Fresenius, 0.4-0.6 mg/kg KGW, i.v., Fresenius Kabi AG, Stans, Schweiz) durchgeführt. Nach Wirkungseintritt der Anästhetika wurde den Tieren ein endotrachealer Tubus gelegt zur Anästhesieerhaltung mit Isofluran-Sauerstoffgemisch (Attane Isoflurane ad us. vet., 1-1.5 %, Minrad INC., Orchard Park, NY, USA). Anschliessend wurden die Tiere auf den Operationstisch überführt und erhielten zusätzlich eine intravenöse Propofoldauerinfusion (Propofol 1 % MCT Fresenius, 1 mg/kg KGW/h, Fresenius Kabi AG, Stans, Schweiz) sowie eine Dauertropfinfusion (Ringer-Laktatlösung, 10 ml/kg KGW/h, Fresenius Kabi AG, Stans, Schweiz). Die Anästhesieüberwachung erfolgte mittels EKG, arterieller Blutdruckmessung, Pulsoxymetrie, Kapnographie und ösophagealer Temperatursonde. Auf die Kornea beider Augen wurde Vitamin A Augensalbe (Vitamin A Blache Augensalbe, 15000 I.E./g, Bausch & Lomb Swiss AG, Steinhausen, Schweiz) aufgetragen. Jedes Tier wurde mit einer projektspezifischen Ohrmarke und einem Mikrochip subkutan links lateral am Hals markiert und erhielt eine

subkutane Injektion mit Tetanusserum (Tetanus-Serum Intervet®, 3000 I.U., Veterinaria AG, Zürich, Schweiz) zur Vermeidung von Wundstarrkrampf.

3.4.3 Lagerung und Desinfektion

Zu den Zeitpunkten der Tenotomie bzw. Refixation wurden die Tiere stets in linker Seitenlage gelagert und mittels Zellstoffpolsterung eine horizontale Lagerung der rechten Gliedmasse sichergestellt. Zum Euthanasiezeitpunkt wurden die Tiere zunächst in rechter Seitenlage gelagert. Nach Entnahme des kontralateralen ISP wurde das Operationsareal tamponiert, die Wunde geklammert (Appose ULC Singel Use Skin Stapler 35W, Covidien, Dublin, Irland) und das Tier zur ISP-Entnahme der Interventionsseite in die linke Seitenlage überführt.

Bei jedem Eingriff wurde die entsprechende Schulter von der dorsalen Mittellinie bis zum rechten Karpus sowie vom Rippenbogen bis zum kranialem Drittel des Halses wie auch medial der Gliedmasse bis zur ventralen Mittellinie geschoren, gereinigt und desinfiziert. Bei Eingriffen mit anschliessender Euthanasie erfolgte keine Desinfektion der Operationsfläche. Die Reinigung und Desinfektion erfolgte mit einem standardisierten Regime aus desinfizierender Flüssigseife (Hibiscrub®, Regent Medical Ltd., Manchester, Vereinigtes Königreich), Alkohollösung (Ethanolum ketonatum 70 %, Streuli Pharma AG, Uznach, Schweiz) und Chlorhexidinlösung (Chlorhexidin 0.5 % in Isopropanol 70 % gefärbt, ad us. vet., Kantonsapotheke, Zürich, Schweiz).

3.4.4 Chirurgische Eingriffe

3.4.4.1 Tenotomie

Der operative Zugang erfolgte über einen 15 cm langen von proximal nach distal geführten Hautschnitt, der kranial und lateral über das rechte Schultergelenk beginnend ca. 4 cm proximal des Akromions zur proximalen Metaphyse des Humerus ans Tuberculum majus leicht kaudal der Spina

scapulae verlief. Blutungen wurden mittels Elektrokauterisation (Monopolar 300W/500 Ohm, Bipolar 120W/75 Ohm, Frequenz 330kHz, BOWA-electronic GmbH, 72810 Gomaringen, Deutschland) gestillt. Das Bindegewebe und die Fascia wurden inzidiert und die Ansatzsehne des ISP am Tuberculum majus wurde vom umgebenen Gewebe freipräpariert. Anschliessend erfolgte eine v-förmige Osteotomie des Tuberculum majus (ca. 20 x 10 x 10 mm) über die Breite der Ansatzsehne des ISP mittels oszillierender Säge mit einem 0.4 mm Sägeblatt. Mit Hilfe des Osteotoms wurde der Knochenchip vorsichtig aus dem Humerus entfernt und nach dorsal verlagert, um die Bindegewebeverwachsungen unter der Sehne von der Gelenkscapsel zu befreien.

Ein Bohrloch (Durchmesser 1.8 mm) wurde im Zentrum des Knochenchips erstellt um ein nicht-resorbierbares Nahtmaterial (Fiberwire USP No. 2, Athrex, Inc, Naples, Florida) in Form eines Achterknotens zweimal durch den Knochenchip zu führen. Beim Knoten wurde eine längere Schlaufe stehen gelassen, um bei der zweiten Operation (vgl. Kap. 3.4.4.2: Refixation) den Knochenchip wieder finden und fixieren zu können. Es wurde eine Bergströmbiopsie des ISP ca. 2 cm kaudal der Spinae scapulae und ca. 4 cm dorsal des Akromions entnommen. Die Muskelelastizität wurde evaluiert indem der Kraftaufwand gemessen wurde, der nötig war um die ISP-Muskelsehneneinheit 1 und 2 cm zu dehnen. Zur Messung der Dehnung wurde ein Massstab an der lateralen Seite des Akromions gehalten. Zur Messung der Kraft wurde ein Newtonmeter mit der Schlaufe des Knochenchips verbunden. Die Muskelsehneneinheit wurde auf Spannung gehalten (nicht gedehnt), sodass die ungedehnte Länge bestimmt werden konnte. Anschliessend wurde der Kraftmesser gezogen und damit der Muskel gedehnt. Jeweils nach Dehnung von 1 und 2 cm wurde die aufgewandte Kraft dokumentiert. Sowohl die Resultate der Bergströmbiopsie als auch die Resultate der Elastizitätsmessung zu allen Zeitpunkten werden in einer anderen Publikation beschrieben.

Anschliessend wurde ein Silikonschlauch (Silicone Penrose Drain Tube, 12 mm Durchmesser; Fortune Medical Instrument, Taipei, Taiwan) über den Knochenchip, die Ansatzsehne und die Fadenschlaufen gestülpt. Der Schlauch wurde mit dem Muskel im proximalen Teil des Knochenchips mit nicht resorbierbarem Nahtmaterial (Supramid 2/0 (3 metric), Braun, Aesculap AG, Tuttlingen, Deutschland) vernäht. Das distale Ende des Schlauchs wurde nach proximal gefaltet und ebenfalls eng vernäht (Supramid 2/0 (3 metric), Braun, Aesculap AG, Tuttlingen, Deutschland), um das Ein- oder Auswachsen von Gewebe zu verhindern. Anschliessend wurde die Operationswunde in drei Schichten verschlossen. Muskulatur sowie Unterhaut wurde einfach fortlaufend mit resorbierbarem Nahtmaterial (Ethicon Vicryl 2/0, Johnson & Johnson AG, 8957 Spreitenbach, Schweiz) vernäht. Der Verschluss der Haut erfolgte mit Klammern (Appose ULC Single Use Skin Stapler 35W, Covidien, Dublin, Irland). Als zusätzlicher Kontaminationsschutz wurde eine sterile Kompresse über die Operationswunde gelegt und mit sechs Klammern fixiert.

3.4.4.2 *Refixation*

Bei allen Tieren wurde 16 Wochen nach Tenotomie eine Reparatur der Infraspinatussehne durchgeführt. Vor jedem operativen Eingriff wurde die Magnetresonanz- (MRT) bzw. Computertomographie (CT) wiederholt. Der Operationszugang erfolgte bei Refixation gemäss der Beschreibung Tenotomie (vgl. Kap. 3.4.4.1). Jedoch wurde der Schnitt nicht unmittelbar durch die vorhandene Narbe geführt, um Wundheilungsstörungen zu vermeiden. Nach stumpfer Präparation in Richtung Scapula und Humeruskopf wurde der Komplex aus Knochenchip und Infraspinatussehne dargestellt und von umgebenem Bindegewebe und dem Silikonschlauch befreit. Erneut wurde eine Bergströmbiopsie entnommen sowie die Muskelelastizität gemäss bei Tenotomie (vgl. Kap. 3.4.4.1) beschriebener Technik evaluiert. Aufgrund der Verkürzung des gesamten ISP wurde eine kürzere Muskeldehnung (nur 1 cm)

zur Messung der Elastizität zugrunde gelegt. Eine 3.5 mm selbstschneidende Kortikalisschraube (12 mm Länge) wurde mit einer Unterlegscheibe in das Tuberculum majus eingebracht. Es erfolgte eine Refixation der Fadenschlaufe an der Kortikalisschraube derart, dass die Infraspinatussehne möglichst nah an die ursprüngliche Position zu liegen kam (vgl. Abb. 7). Die Wunde wurde gemäss Beschreibung in Kap. 3.4.4.1 verschlossen.

3.4.5 Postoperatives Management

3.4.5.1 Allgemein

Nach Tenotomie und Refixation wurden die Tiere während der gleichen Anästhesie zur Magnetresonanz- und Computertomographie transportiert. Zur Aufwachphase wurden sie anschliessend in eine Einzelbox in der Nähe des Operationssaales verbracht und sternal gelagert. Sobald ein Schluckreflex vorhanden war wurden die Tiere extubiert. Bei Unauffälligkeiten wurden die Tiere am gleichen oder darauffolgenden Tag zu den Stallungen der MSRU transportiert und in Kleingruppen aufgestellt. Die Tiere wurden zweimal täglich tierärztlich untersucht und die präoperativ eingeleitete Antibiose von Benzylpenicillin (Penicillin Natrium Streuli ad us. vet., 30000 I.E./kg KGW, G. Streuli & Co AG, Uznach, Schweiz) und Gentamicin (Vetagent ad. us., 4 mg/kg KGW, Veterinaria AG, Zürich, Schweiz) jeweils zweimal täglich vier Tage nach Operation intravenös weitergeführt. Des Weiteren wurde allen Tieren zur analgetischen und antiphlogistischen Versorgung ebenfalls vier Tage lang einmal täglich Carprofen (Rimadyl®, 4 mg/kg KGW, Pfizer AG, Vertrieb Dr. Gräub, Zürich, Schweiz) intravenös injiziert. Alle Tiere erhielten am Tag der Operation vierstündlich drei intramuskuläre Injektionen Buprenorphin (Temgesic® 0.01 mg/kg KGW, Essex Chemie AG, Luzern, Schweiz) als zusätzliche Schmerztherapie beginnend vier Stunden nach Prämedikation. 21 Tage nach der Operation wurden die Hautklammern entfernt.

3.4.5.2 *Nandroloninjektionen*

Tiere der Nandrolon-22W-Gruppe und Nandrolon-6W-Gruppe erhielten wöchentlich links und rechts alternierende intramuskuläre Injektionen von 3 ml Nandrolon (Deca-Durabolin® 50 mg/ml, MSD Merck Sharp & Dohme AG, Luzern, Schweiz) in den M. quadriceps. Bei Nandrolon-22W-Gruppe begannen die Injektionen in Woche 0 und bei Nandrolon-6W-Gruppe in Woche 16 jeweils am Interventionstag nach Operation (vgl. Abb. 2).

3.4.5.3 *Nach Tenotomie*

Drei Wochen nach Operation wurden die Tiere zurück zu den Stallungen des externen Betriebes (Staffeleggghof AG, Küttigen, Schweiz) transportiert. Dort hatten sie täglich Weidezugang und wurden regelmässig kontrolliert.

3.4.5.4 *Nach Refixation*

Allen Tieren wurde nach Abschluss der Operation noch in Anästhesie mittels Stützverbandes ein halbaufgeschnittener Springball (Durchmesser 10 cm) unter die rechte Klaue gebracht und in ein Suspensionsnetz überführt (vgl. Abb. 8). Mit dieser Beinverlängerung und dem runden Profil des Balls wurde die Hauptlast der Vordergliedmassen auf die linke Gliedmasse verlagert und die rechte Gliedmasse in Beugestellung gehalten, um den reparierten Muskel-Sehnen-Komplex zu entlasten [73]. Die Tiere wurden in Einzelboxen der MSRU transportiert, sternal gelagert und extubiert sobald ein Schluckreflex sichtbar war. Das Suspensionsnetz wurde mit der Seilwinde des Hängesystems der Einzelbox verbunden und der erste Aufstehversuch wurde durch Zug an der Seilwinde unterstützt. Die Höhe des Suspensionsnetzes wurde anschliessend so eingestellt, dass es beim stehendem Tier frei hing und das Ablegen des Tieres auf den Boxenboden verhinderte. Somit blieb den Tieren ausreichend Raum um sich in den Einzelboxen relativ frei zu bewegen, dennoch konnten Belastungsspitzen auf die Reparationsstelle des Muskel-Sehnen-Komplexes vermieden und damit das Risiko von Rupturen oder Frakturen vermindert werden. Die

Suspensionsnetze sind Spezialanfertigungen, die bereits in anderen Studien Anwendung fanden und gut von den Schafen toleriert wurden [8, 18, 20]. 21 Tage nach der Refixation wurden die Suspensionsnetze entfernt. Die Tiere verblieben in Einzelhaltung, um eine zu starke Belastung der Reparationsstelle zu vermeiden. Wöchentlich wurde der Stützverband gewechselt. Die Tiere standen durch die Gitterstäbe stets in direktem Kontakt mit ihren Nachbarn.

3.4.6 Euthanasie

Zunächst wurden die Tiere wie bei Operationsvorbereitung und Anästhesie (vgl. Kap. 3.4.1 und 3.4.2) beschrieben prämediziert, anästhesiert und vorbereitet. Anschliessend wurde der gesamte ISP beiderseits chirurgisch entnommen und direkt dem weiteren Verarbeitungsprozess (Gewicht-, Volumenbestimmung, Probenaufbereitung) zur Verfügung gestellt. Der Zugang erfolgte wie bei Tenotomie (vgl. Kap. 3.4.4.1) beschrieben. Der ISP wurde mit Hilfe des Elektrokauters von seinen Verwachsungen mit M. deltoideus und T. majus entfernt und von der Scapula gelöst. Auf der Kontralateralseite wurde der ISP von seiner Humerusansatzstelle getrennt. Auf der Interventionsseite der tenotomierten Tiere wurden die Fadenschlaufen von der Schraube gelöst und der Muskelbauch wie an der kontralateralen Seite von seinen Verwachsungen bzw. der Scapula getrennt. Beiderseits wurden Bergströmbiopsien entnommen und die Elastizitätsmessung gemäss bei Tenotomie (vgl. Kap. 3.4.4.1) beschriebener Technik vor ISP-Entnahme durchgeführt. Direkt nach Entnahme beider ISP wurden die Tiere mit einer intravenösen Injektion Pentobarbital (Esconarkon ad us. vet., 150 mg/kg KGW, Streuli Pharma AG, 8730 Uznach, Schweiz) euthanisiert.

3.5 Bildgebende Verfahren

Magnetresonanz- (MRT) und Computertomographie (CT) wurde unter Allgemeinanästhesie in Rückenlage in Woche 0, Woche 6, Woche 16 und Woche 22

durchgeführt. In Woche 0 erfolgten die radiologischen Untersuchungen nach dem operativen Eingriff, in Woche 16 und Woche 22 davor. Sowohl CT als auch MRT wurde nach der in Wieser et al. beschriebenen Methode durchgeführt, die nachfolgend kurz beschrieben wird. [74]

3.5.1 Computertomographie

Computertomographie (CT) wurde nach der in der Literatur beschriebenen Methode durchgeführt [14, 19, 39]. Jedes Tier wurde mittels Schaumpolsterung in Rückenlage und Kopf voran in Richtung CT-Röhre (Somatom ART; Siemens Medical Solutions, Erlangen, Deutschland) positioniert. Die Vordergliedmassen wurden derart gelagert, dass beide Spinae scapularum senkrecht in der Bildungsebene lagen um 2 mm starke Transversalschnitte der Schulter senkrecht zur Cavitas glenoidalis erstellen zu können. Die CT Bilder wurden für diese Dissertation zur Lokalisierung des Knochenchips in Ergänzung zu den MRT-Bildern herangezogen. Die Retraktion der Muskelsehneneinheit des ISP sowie das Volumen und die Dichte aus den CT-Bildern werden für Rückschlüsse auf die fettige Infiltration und Atrophie in einer anderen Publikation beschrieben.

3.5.2 Magnetresonanztomographie

Die Magnetresonanztomographie (MRT) wurde in der gleichen Lagerung wie in der Computertomographie mit einem 3-Tesla System (Philips INgenia 3T with dStream body coil Solution, Philips AG; Zurich, Switzerland) und einer speziellen Empfangsspule für Extremitäten unter Anwendung diverser MRT-Pulssequenzen (T1W TSE transversal; PDW aTSE transversal; T1W TSE koronal; T2W SPIR koronal; smDIXON transversal phasengleich; smDIXON transversal phasenungleich; smDIXON transversal nur Wasser; smDIXON transversal nur Fett) durchgeführt. Aus den transversalen T1W TSE Sequenzen wurden die Fiederungswinkelmessungen, Muskelfaserbündellängenmessungen sowie Muskelretraktionsmessungen durchgeführt.

3.6 Probengewinnung und Probenaufbereitung

3.6.1 Muskelaufbereitung und Gewinnung der Kryobiopsien

Jeder ISP wurde beginnend an der Ansatzsehne von distal nach proximal in Längsrichtung gespalten (vgl. Abb. 9). Die kaudale bzw. zur Spina scapulae entfernten ISP-Hälfte (ISP-E) wurde direkt in 1.5 Liter 4 % gepuffertem Formalin überführt. Aus der Spina scapulae anliegenden Hälfte (ISP-A) wurden Biopsien entnommen, die für Ölotfärbungen und etwaige immunhistochemische Nachuntersuchungen ohne Formalinkontakt vorgehalten wurden. Zur Standardisierung der Biopsieentnahme wurden Entnahmestellen (Interventionsseite: B, Kontralateralseite: D; vgl. Abb. 10) an den ISP-Hälften definiert indem die Hälfte der Strecke zwischen Übergang Ansatzsehne-Muskulatur bis Ende ISP-Muskelbauch geschätzt wurde. Mithilfe einer Pinzette und eines Skapellklingenhalters mit Skalpellklinge Nr. 22 wurde eine ca. 0,5 cm x 1 cm x 1 cm grosse Biopsie senkrecht zum Faserverlauf (Abb. 10) entnommen, in eine Kunststoffdose (Kunststoffdose 33 x 16 mm, Art. Nr. DB11230.020, Johann Renfer GmbH, Lengnau, Schweiz) überführt und in flüssigem Stickstoff schockgefroren. ISP-A wurde in einen Vakuumbbeutel (Tangan N°62 Vakuum-Beutel 3 Liter, Migros-Genossenschafts-Bund, Zürich, Schweiz) überführt, vakuumiert und zusammen mit den Kunststoffdosen bei -80 °C gelagert.

3.6.2 Paraffinschnitte und Immunhistochemie

Nach min. 24h / max. 72h Fixationszeit in 4 % gepuffertem Formalin bei Raumtemperatur wurden aus den ISP-E-Hälften an den Stellen B und D (vgl. Abb. 10) Biopsien von ca. 0.3 cm x 1 cm x 1 cm Grösse senkrecht zur Faser zugeschnitten und in beschrifteten Kassetten in Formalin gesammelt. Anschliessend wurde eine Standardentwässerung über Nacht im Gewebeeinfiltrationsautomaten (Leica Histoprocessor ASP200S, Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland) mit aufsteigender Alkoholreihe und Infiltration in flüssigem Paraffin durchgeführt (Xylol als Intermedium; vgl. Tab. 8). Daraufhin

wurden die Biopsien in Paraffin eingebettet und 3 – 5 µm dünne Schnitte auf Super Frost Plus Objektträger (SuperFrost® Plus, Menzel GmbH & Co KG, Braunschweig, Deutschland) aufgezogen und bei 37 °C getrocknet. Jeder Objektträger wurde vor entsprechender Färbung mit Xylol und absteigender Alkoholreihe entparaffiniert. Anschliessend wurde eine Antikörper-Doppelfärbung (DAKO EnVision G/2 Doublestain System, Rabbit/Mouse (DAB+/Permanent Red) Code K5361, Dako Schweiz AG, Baar, Schweiz) zur Differenzierung der Muskelfasern Typ I und Typ II durchgeführt. Alle Inkubationen erfolgten bei Raumtemperatur und zwischen jedem Schritt wurden die Muskelschnitte mit Waschpuffer (PBS, pH 7.4) gespült. Nach Entparaffinierung wurden die Proben gespült und anschliessend eine Enzymblockierung (Dual Endogenous Enzyme Block, Dako Schweiz AG, Baar, Schweiz) zur Hemmung der endogenen alkalischen Phosphatase-, Peroxidase- und Pseudoperoxidase-Aktivität durchgeführt. Es schloss sich die erste Primärantikörperinkubation (Monoclonal Anti-Myosin (Skeletal, Slow) antibody clone NOQ7.5.4D produced in mouse ascites fluid; Immunogen: Myosin (Mensch); Katalog Nr. M8421, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) für 60 Minuten an. Es folgte eine 10 minütige Inkubation mit einer Reagenz aus Meerrettichperoxidasen und mit Immunoglobulinen konjugiertes Dextranpolymer (Polymer-/HRP-Reagenz, Dako Schweiz AG, Baar, Schweiz) und anschliessend zweimaliger Waschpufferspülung. Daraufhin wurde die Reaktion mit DAB+ Chromogen (5 % 3,3'-Diaminobenzidin-Tetrahydrochlorid-Chromogenlösung, EnVision, Dako Schweiz AG, Baar, Schweiz) nach 5 – 15 Minuten Inkubation visualisiert. Hierbei erfolgte die Spülung mit entionisiertem Wasser. Nach einem weiteren Blockierungsschritt wurde die zweite Primärantikörperinkubation (Monoclonal Anti-Myosin (Skeletal, Fast) antibody clone MY-32 produced in mouse ascites fluid; Immunogen: Myosin (Kaninchen); Katalog Nr. M4276, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) für 60 Minuten angeschlossen. Im nächsten Schritt folgte eine 10 minütige Inkubation eines mit sekundären Antikörpern gegen Maus-

Immunglobuline gekoppelten Dextranpolymers mit anschliessend zweimaliger Waschpufferspülung. Nach der 10 minütigen Inkubation einer Reagenz aus alkalischer Phosphatase und mit Immunglobulinen konjugiertes Dextranpolymer (Polymer-/AP-Reagenz, Dako Schweiz AG, Baar, Schweiz) wurde die Reaktion mit Permanent Red Chromogen nach 5 – 20 minütiger Inkubation visualisiert. Nach der Visualisierung erfolgte die Waschung mit entionisiertem Wasser, die Schnitte wurden mit Hämatoxylin gegengefärbt, mit entionisiertem Wasser gespült und abschliessend mittels wässrigem Eindeckmittel (Aquatex®, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) mit Deckgläsern abgedeckt. Die Typ I-Fasern stellten sich braun und die Typ II-Fasern pink/rosa gefärbt dar. Daneben gab es auch Hybridfasern (sowohl braun als auch rosagefärbte Fasern), bei denen die spätere Klassifizierung nach der dominanteren Färbung durchgeführt wurde. Die Negativkontrolle erhielt keine Antikörper sondern nur Verdünnungspuffer (PBS, pH 7.4).

3.6.3 Kryoschnitte und Ölrotfärbung

Die schockgefrorenen, nicht formalinfixierten Biopsien aus den ISP-A-Hälften wurden in 8 µm dicken Schnitten auf Objektträger (SuperFrost® Plus, Menzel GmbH & Co KG, Braunschweig, Deutschland) gezogen und anschliessend mit Fettfärbung (Ölrot/Hämatoxylin, vgl. Tab. 9) versehen.

3.7 Messungen

3.7.1 Bestimmung der Muskelgewichte und –volumina

Direkt nach der chirurgischen Entnahme wurde das Muskelgewicht mit einer elektronischen Waage (Page Evolution, LEIFHEIT AG, Nassau/Lahn, Deutschland) ermittelt. Zur Volumenbestimmung wurde ein 500 ml Glasmesszylinder mit 250 ml NaCl-Lösung (NaCl 0.9 % Infusionslösung, B. Braun Medical AG, Sempach, Schweiz) gefüllt (Level 1). Anschliessend wurde der ISP in die Lösung überführt und sichergestellt, dass der muskulotendinöse Teil vollstän-

dig mit Flüssigkeit bedeckt war. Bei den linken ISP wurde sichergestellt, dass der Knochenchip aus der Flüssigkeit herausragte. Der neue Flüssigkeitsstand (Level 2) wurde per Fotodokumentation zur exakten Analyse festgehalten. Das Volumen der ISP wurde aus der Differenz von Level 2 und Level 1 ermittelt.

3.7.2 Bildgebende Verfahren

Die Messungen der Fiederungswinkel, Muskelfaserbündellängen und Retraktionsabstände erfolgten mit einem Darstellung- und Bearbeitungsprogramm für DICOM-Bilddaten (OsiriX v. 5.6 32-bit, Pixmeo SARL, Bernex, Schweiz) an den transversalen Bildern der T1W TSE-Magnetresonanzsequenzen (vgl. Abb. 19).

3.7.2.1 Fiederungswinkel- und Muskelfaserbündellängenmessung

Nach einer entsprechenden Helligkeits- und Kontrastanpassung konnten einzelne Muskelfaserbündel in der kraniokaudalen Mitte des Infraspinatusmuskel dargestellt werden. Die Messung erfolgte im distalen Drittel des Muskels. Sowohl auf der Interventions- als auch auf der Kontralateralseite wurden die Fiederungswinkel- und Muskelfaserbündellängenmessungen jeweils in der von der Sehnenplatte geteilten lateralen und medialen Infraspinatusseite durchgeführt. Aus diesen beiden Werten (lateral und medial) wurde für die Auswertung das arithmetische Mittel berechnet (vgl. Abb. 20 und Abb. 21).

3.7.2.2 Muskelretraktion

Zur Bestimmung der Retraktionsabstände wurde zunächst ein Lot auf den Scapulahals gefällt. Mittels Parallelverschiebung wurde dieses dann auf den dorsalen Rand des Humeruskopfes transferiert (vgl. Abb. 22). Anschliessend wurden drei Abstände gemessen:

1. Abstand zwischen distaler Grenze des Knochenchips und Lot
2. Abstand zwischen proximaler Grenze des Knochenchips und Lot
3. Abstand zwischen distaler Grenze des Infraspinatusmuskel und Lot

Teilweise war die Zuordnung der Abstandspunkte nur unter Zuhilfenahme der MRT-Bilder von 1 – 3 Ebenen weiter kranial oder kaudal der messenden Ebene möglich. Die computertomographischen Bilder wurden unterstützend zur genauen Lokalisation des Knochenchips bei den Muskelretraktionsmessungen hinzugezogen. Die Muskelabstände (Nr. 3) wurden zur Diskussion der Muskelretraktion herangezogen.

3.7.3 Muskelhistologie

Jeder Objektträger wurde mit einem Etikett versehen und die Schnitte unter dem Mikroskop (Leica DMR, Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Deutschland) mit einem 1,25er Objektiv auf Artefakte untersucht.

Anschliessend wurde bei den immunhistochemisch gefärbten Schnitten mit einer zuvor erstellten Schablone aus Kunststoff nach Schema in Abb. 11 drei sogenannte „Region of Interests“ (ROI 1 – 3) auf einem artefaktfreien Areal markiert. Dies erfolgte mit einem wasserfesten Stift (OHPen universal S schwarz, STABILO International GmbH, Heroldsberg, Deutschland) direkt auf dem Deckglas, wobei die Längsseite der Schablone parallel zur Längsseite des Objektträgers orientiert wurde. Darauffolgend wurden sie auf dem Objektisch des Leica DMR derart eingespannt, dass das Etikett rechtseitig liegt. Über das 1.25er Objektiv wurden mittels der aufgesetzten Kamera (Leica DFC 320, Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Deutschland) und dem Aufnahmeprogramm (Image Access Standard, Imagic Bildverarbeitung AG, Glattpburg, Schweiz) drei Übersichtsaufnahmen (Beispielaufnahme vgl. Abb. 13) angefertigt in deren Zentrum je eine ROI lag. Jede ROI wurde definiert als benachbarter Bereich zwischen Farbmarkierung und Objektträgeretikett, wobei die ROI möglichst nah an die Farbmarkierung angrenzte und die grösstmögliche Menge an quer getroffenen Muskelfasern enthielt. Für ROI-1, ROI-2 und ROI-3 wurde je eine Vergrösserungsaufnahme mit dem 10-fach Objektiv (IH10-Aufnahmen) aufgenommen. Die Farbmarkierungen dienten zur Orientierung der Ver-

grösserungen in der Übersichtsaufnahme. Diese Standardisierung ermöglichte die spätere Klassifizierung des Fettgehalts in endo- und perimysial lokalisiertes Fett. In Ausnahmefällen (z.B. Artefakte im ROI) musste von diesem Standard abgewichen werden. Für ROI 1 – 3 wurde nach Definition je ein Gesichtsfeld mit dem 10-fach Objektiv aufgenommen (Beispielaufnahme vgl. Abb. 14).

Tab. 1: Übersicht der histologischen Messparameter

Parameter	Resultate
Muskelfaserdurchmesser (Mittel, Typ I, Typ II)	Kap. 4.6.1.1
Muskelfasergehalt pro Gesichtsfeld (Mittel, Typ I, Typ II)	Kap. 4.6.1.2
Muskelfaseranzahl pro Gesichtsfeld (Typ I, Typ II)	Kap. 4.6.1.3
Muskelfaserquerschnittsfläche (Mittel, Typ I, Typ II)	Kap. 4.6.1.4
Fettgehalt pro Gesichtsfeld – Immunhistochemie der Paraffinschnitte (total, endomysial, perimysial)	Kap. 4.6.2.1
Fettgehalt pro Gesichtsfeld – Ölrotfärbung der Kryoschnitte	Kap. 4.6.2.2
Bindegewebegehalt pro Gesichtsfeld	Kap. 4.6.3

3.7.3.1 Muskelfaserdurchmesser

Pro Entnahmestelle (Interventions- und Kontralateralseite, vgl. Abb. 10) wurde in allen 3 ROI bei je 20 Einzelfasern (insgesamt 60 Einzelfaser pro Entnahmestelle) der Durchmesser mittels Mehrfachmesswerkzeug (Image Access Standard, Imagic Bildverarbeitung AG, Glattbrugg, Schweiz) gemessen (vgl. Abb. 15). Bei nicht kreisrunden Fasern wurde der minimale Durchmesser durch den geschätzten Mittelpunkt der Fasern gewertet (vgl. Abb. 18). Anschliessend wurde aus allen 60 Einzelfasern ein arithmetisches Mittel gebildet und in eine Excel-Tabelle für die spätere Statistik übertragen (vgl. Tab. 17). Abweichungen in der Anzahl der gemessenen Fasern aufgrund mangelnder Faseranzahl in den drei ROIs können der Tab. 18 entnommen werden.

3.7.3.2 Histomorphometrie der Paraffinschnitte

In allen Einzelaufnahmen (10-fach Objektiv; Immunhistochemie) der ROI-1, ROI-2 und ROI-3 sowohl der Interventions- als auch Kontralateralseite wurden mit einem Bildbearbeitungsprogramm (Photoshop Elements 12, Adobe Systems Inc., San Jose, USA) folgende Kategorien mit verschiedenen Farben überlagernd gefärbt: Muskelfaser Typ I, Muskelfaser Typ II, endomysiales Fett, perimysiales Fett und Artefakt (vgl. Abb. 16). Der Hintergrund wurde aus der Differenz der Gesamtanzahl aller Bildpunkte und der Summe der eingefärbten Kategorien bestimmt und steht demnach mehrheitlich für Bindegewebe. Daneben enthielt er aber beispielsweise auch Blutgefäße und Nerven.

Tab. 2: Farbcodierung Histomorphometrie (Immunhistochemie)

Kategorie	Farbe
Muskelfaser Typ I	rot
Muskelfaser Typ II	gelb
endomysiales Fett	hellblau
perimysiales Fett	dunkelblau
Artefakt	pink
Hintergrund	beige

In jeder Einzelaufnahme wurde mit einer Analysesoftware (ImageJ, U. S. National Institutes of Health, USA) die Anzahl der Bildpunkte der einzelnen Kategorien berechnet. Anschliessend wurde der relative Anteil einer jeden Kategorie zur korrigierten Gesamtpixelanzahl (korrigierte Gesamtpixelanzahl = Gesamtpixelanzahl - Artefaktpixel) in % berechnet.

3.7.3.3 Muskelfaserzählung

Mittels Bildbearbeitungssoftware (Photoshop Elements 12, Adobe Systems Inc., San Jose, USA) wurden in den IH10-Aufnahmen alle Muskelfasern typspezifisch (rot und gelb, vgl. Tab. 2) mit Punkten mit einem Durchmesser von 50 Pixeln markiert (vgl. Abb. 17). Als Auswahlkriterium der vom Bilrand geschnittenen Muskelfasern wurden die beiden inneren Winkel, gebildet von

Zellwand und Bildrand, herangezogen. Falls beide Winkel spitz (Winkel < 90 °) waren, wurden die Muskelfasern nicht gezählt. Die Muskelfasern wurden gezählt, wenn sie nach geschätztem Grössenvergleich mit vollständig sichtbaren Zellen zu mehr als 50 % in der Aufnahme zu sehen war. Anschliessend wurde mit einer Analysesoftware (ImageJ, U. S. National Institutes of Health, USA) die Anzahl der Punkte mit dem im Anhang befindlichen Programmcode (vgl. Tab 10 und 11) analysiert.

3.7.3.4 Muskelfaserquerschnittsfläche

Pro Einzelaufnahme wurde die Pixelanzahl der Typ I-Fasern mit dem Faktor $0,12 \mu\text{m}^2$ (Massstab: 1 Pixel = $0,12 \mu\text{m}^2$) multipliziert und anschliessend durch die typspezifischen Faseranzahl dividiert, um die absolute Faserquerschnittsfläche in μm^2 pro Einzelfaser zu bestimmen. Analog wurde mit den Werten der Typ II-Fasern verfahren. Zur Darstellung des Verhältnisses Typ I- zu Typ II-Fasern pro Gruppe wurden die Querschnittsflächen Typ I durch die Querschnittsflächen Typ II dividiert (Querschnittsfläche Ratio).

3.7.3.5 Histomorphometrie der Kryoschnitte

Von allen ölotgefärbten Objektträgern mit Schnitten der Kryobiopsien wurde eine Einzelaufnahme mit der Übersichtsvergrösserung 1,25x (Leica DMR und Leica DFC 320, Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Deutschland) digitalisiert (Image Access Standard, Imagic Bildverarbeitung AG, Glattbrugg, Schweiz). Anschliessend wurden alle Aufnahmen wie in Kap. 3.7.3.2 „Histomorphometrie“ beschrieben und mit verschiedenen Farben für folgende Kategorien gefärbt: Fett, Hintergrund und Artefakt (vgl. Tab. 3).

Tab. 3: Farbcodierung Histomorphometrie (Ölot/Hämatoxylin)

Kategorie	Farbe
Fett	dunkelblau
Artefakt	pink
Hintergrund	beige

Gemäss Beschreibung in Kap. 3.7.3.2 wurde die Anzahl der Bildpunkte pro Kategorie und anschliessend der korrigierte relative Prozentanteil für die Kategorie Fett und Hintergrund berechnet.

3.7.3.6 Qualitative Beurteilung

In allen Einzelaufnahmen (10-fach Objektiv; Immunhistochemie) der ROI-1, ROI-2 und ROI-3 sowohl der Interventions- als auch Kontralateralseite wurde ein Scoring (1 = Merkmal liegt vor, 2 = Merkmal liegt nicht vor) nach in Tab. 4 aufgeführten Merkmalen und Annahmebedingungen durchgeführt.

Tab. 4: Qualitative Beurteilung der histologischen Gewebeschnitte (Merkmal, Abkürzung, Annahmebedingung)

Merkmal	Abkürzung	Annahmebedingung
Fettvakuolen in Übersicht	Fvak	Im Vergleich zu den anderen Gewebeschnitten liegt in der Übersichtsvergrösserung eine vermehrte Anzahl von Fettvakuolen im Gewebe vor.
Abnorme Muskelfasern (unspezifisch)	Abn	Es ist mind. eine Muskelfaser vorliegend, die relativ zu den anderen Muskelfasern eine grössere, abgerundetere, prallere und farblosere Morphologie zeigt.
Abnorme Muskelfasern (Typ I)	TypIAbn	Es ist mind. eine Muskelfaser vorliegend, die relativ zu den anderen Muskelfasern eine grössere, abgerundetere und prallere Morphologie zeigt sowie schwächer braun gefärbt ist.
Abnorme Muskelfasern (Typ II)	TypIIAbn	Es ist mind. eine Muskelfaser vorliegend, die relativ zu den anderen Muskelfasern eine grössere, abgerundetere und prallere Morphologie zeigt sowie schwächer pink gefärbt ist.

Innenkerne	InnK	Es ist mind. eine Muskelfaser mit zentralständigen Zellkernen vorliegend.
Entzündungszellen im Interstitium	Entzdg	Im Interstitium liegt eine überdurchschnittliche Zahl von Entzündungszellen vor.
Parasiten	Para	In mind. einer Muskelfaser liegt ein intrazellulärer Parasit vor.
Technische Artefakte	Art	Es liegen technische Artefakte (z.B.: Zerreissung, Faltung, etc.) im Präparat vor.

Anschliessend wurde pro Tier das arithmetische Mittel der Scoringwerte aus ROI-1, ROI-2 und ROI-3 gebildet (auf Hundertstel gerundet) und diese zur statistischen Gruppenauswertung nach Tab. 5 den Kategorien A, B, C und D im ordinalen Skalenniveau zugeordnet.

Tab. 5: Zuordnung der arithmetischen Mittelwert des ROI-Scorings zu ordinal skalierten Kategorien (A, B, C und D)

Arithmetisches Mittel der ROI-Scoringwerte	Kategorien in Ordinalskala
1	A = Merkmal liegt in 3 ROI vor
1.33	B = Merkmal liegt in 2 ROI vor
1.67	C = Merkmal liegt in 1 ROI vor
2	D = Merkmal liegt nicht vor

3.8 Statistik

Für alle erhobenen Daten wurde mittels Statistikprogramm (IBM® SPSS® Statistics Version 22, IBM, Armonk, USA) eine faktorielle Varianzanalyse zur Bestimmung von gesamthaft signifikanten Unterschieden und der Erhebung von Mittelwerten und Standardfehlern angewendet. Zur vertiefenden Unter-

suchung der Signifikanzen zwischen den einzelnen Gruppen wurde ein Post-hoc-Test nach Scheffé und Bonferroni sowie ein t-Test bei unabhängigen Stichproben durchgeführt. P-Werte < 0.05 galten als statistisch signifikant.

4 Resultate

Die Gruppenmittelwerte sowie -standardfehler können der Tab. 33 entnommen werden.

4.1 Körpergewicht

Die genauen Körpergewichte zu den Zeitpunkten Woche 0, Woche 16 und Woche 22 sind in Tab. 12 aufgelistet. Das mittlere Körpergewicht der Tiere zu Beginn der Studie betrug 46.77 ± 3.73 kg. Im Mittel hat jedes Tier während der gesamten Studie 13.04 ± 2.70 kg bzw. 21.78 ± 4.04 % Körpergewicht zugenommen (vgl. Abb. 24). Zwischen den Gruppen zeigte sich in der Gewichtszunahme kein signifikanter Unterschied (ANOVA, $p = .421$).

4.2 Operative Eingriffe

Die meisten Operationen verliefen ohne grössere Komplikationen. Relevante Auffälligkeiten oder Abweichungen während der operativen Eingriffe werden im Folgenden beschrieben.

Während des Tenotomieeingriffs fiel bei Tier 29.12 auf, dass die Infraspinatusmuskulatur von weicher und wässriger Konsistenz war. Vor Operationsbeginn wurde bei Tier 29.18 2 cm kaudal der Inzisionslinie ein walnussgrosser Abszess entfernt. Bei einem Tier zeigten sich während des Tenotomieeingriffs fibrotische Veränderungen mit Umfangsvermehrung und Ödematisierung an der Infraspinatusmuskulatur. Die Operation wurde abgebrochen und das Tier (29.39) aus der Studie exkludiert und durch ein Reservetier mit gleicher Akklimatisation ersetzt. Die bakterielle Untersuchung (Institut für Veterinär-bakteriologie Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich, Schweiz) ergab einen geringgradigen Keimgehalt an *Enterococcus species*.

Während des Refixationseingriffs wurde bei Tier 29.04 eine Pseudoarthrose im Tuberculum majus mit massiver Vernarbung und verstärkter Retraktion des Infraspinatus bis 1 cm hinter das Akromion beobachtet. Beim Refixations-

versuch frakturierte das Tuberculum majus. Eine vollständige Mobilisation des ISP war aufgrund des Risikos der Denervation nicht möglich. Als Folge einer arteriellen Verletzung verlor dieses Tier ca. 0,5 l Blut. Die Arterie wurde ligiert und der Versuch konnte weiter geführt werden. Die Refixation bei diesem Tier erfolgte weiter distal als in Kap. 3.4.4.1 beschrieben und mit einer längeren Fadenschlaufe. Auch bei Tier 29.06 frakturierte das Tuberculum majus beim Refixationsversuch. Daher wurde die Schraube weiter distal versetzt eingebracht als in Kap. 3.4.4.1 beschrieben. Der Infraspinatusmuskel stellte sich bei Tier 29.09 massiv retrahiert und mit Verwachsungen zum Teres minor dar, sodass die Refixation mit ebenfalls etwas längerer Fadenschlaufe erfolgte.

4.3 Postoperatives Management

Bei allen Tieren zeigten sich nach den operativen Eingriffen Serome unter der Operationsnaht, die sich nach einigen Tagen jedoch ohne Behandlung spontan wieder zurückbildeten. Alle Tiere zeigten nach der Operation Lahmheiten in der rechten Vordergliedmasse.

Nach Absetzen des Carprofen zeigten einige Tiere weitere Anzeichen von erhöhten Schmerzen und erhielten zusätzliche Gaben Carprofen (Rimadyl®, 4 mg/kg KGW, Pfizer AG, Vertrieb Dr. Gräub, Zürich, Schweiz). Die zusätzlichen Carporfengaben sind in Tab. 7 aufgelistet. Sonst zeigten sich in der postoperativen Überwachung keine grösseren Komplikationen.

4.4 Bildgebende Verfahren

MRT und CT verliefen ohne grössere Komplikationen. Lediglich bei Tier 29.17 konnten in den MRT-Aufnahmen keine Faserbündel zur Messung des Fiederungswinkels sowie der Faserbündellängen erkannt werden. Bei wenigen Tieren konnte lagerungsbedingt verstärkte Hautfaltenbildung in der Nähe der Schulter beobachtet werden (vgl. Abb. 23).

4.4.1 Auswertung der Fiederungswinkel

Die genauen Ergebnisse der Fiederungswinkelmessung im MRT sind in der Tab. 32 aufgelistet. Zwischen den Gruppen stellt sich im ANOVA Test bei Woche 0 und Woche 22 ein signifikanter Unterschied dar (ANOVA, t0: $p = .003$, t6: $p = .078$, t16: $p = .079$, t22: $p < .001$). Insgesamt zeigt sich der Fiederungswinkel auf der Interventionsseite tendenziell grösser als auf der Kontralateralseite (vgl. Abb. 51 und Abb. 53).

Der Fiederungswinkel vergrösserte sich von Woche 0 zu Woche 22 auf der Interventionsseite in der Kontroll- und Nandrolon-6W-Gruppe während dessen er sich in der Nandrolon-22W-Gruppe kaum veränderte (T OP: $160.31 \pm 23.90 \%$, TN6W OP: $140.26 \pm 13.40 \%$, TN22W OP: $106.49 \pm 19.07 \%$). Auf der Kontralateralseite verkleinerte sich der Fiederungswinkel von Woche 0 zu Woche 22 in der Kontrollgruppe etwas, jedoch war er in der Nandrolon-22W-Gruppe fast unverändert geblieben (T K: $82.51 \pm 8.02 \%$, TN6W K: $94.37 \pm 11.68 \%$, TN22W: $105.8648 \pm 12.28 \%$). Dabei ist der Unterschied zwischen Interventions- und Kontralateralseite in der Kontroll- und Nandrolon-6W-Gruppe signifikant (t-Test, T: $p = .012$, TN6W: $p = .028$, TN22W: $p = .979$) (vgl. Abb. 54). Im Folgenden wird der prozentuale Anstieg des Fiederungswinkels der Interventionsseite an der Kontralateralseite zu den vier Messzeitpunkten beschrieben:

4.4.1.1 Woche 0

Der mittlere Anstieg des Fiederungswinkels auf der Interventionsseite im Vergleich zur Kontralateralseite war in der Kontroll- und Nandrolon-6W-Gruppe ähnlich und in der Nandrolon-22W-Gruppe signifikant vergrössert (T: $128.6 \pm 18.31 \%$, TN6W: $119.36 \pm 16.83 \%$, TN22W: $166.9 \pm 15.35 \%$; Post-hoc-Test Scheffé, TN22W: $p = .029$).

4.4.1.2 Woche 6

Der mittlere Anstieg des Fiederungswinkels auf der Interventionsseite im Vergleich zur Kontralateralseite war in der Kontrollgruppe am geringsten und in Nadrolon-6W- und Nandrolon-22W-Gruppe auf ähnlichem Niveau (T: 130.58 ± 12.43 %, TN6W: 164.13 ± 33.47 %, TN22W: 161.55 ± 17.19 ; t-Test, T: $p = .250$, TN6W: $p = .150$, TN22W: $p = .021$).

4.4.1.3 Woche 16

Der mittlere Fiederungswinkel auf der Interventionsseite im Vergleich zur Kontralateralseite zeigte in allen drei Gruppen keine grossen Unterschiede (T: 156.82 ± 29.12 %, TN6W: 160 ± 22.97 %, TN22W: 149.49 ± 34.09 %).

4.4.1.4 Woche 22

Der mittlere Fiederungswinkel ist auf der Interventionsseite im Vergleich zur Kontralateralseite in der Kontrollgruppe am grössten gefolgt von Nandrolon-6W- und Nandrolon-22W-Gruppe auf in etwa einem Niveau (T: 243.47 ± 35.74 %, TN6W: 174.13 ± 15.39 %, TN22W: 188.02 ± 45.71 %). Der Unterschied zwischen Interventions- und Kontralateralseite ist in der Kontroll- und Nandrolon-6W-Gruppe signifikant (t-Test, T: $p = .008$, TN6W: $p = .003$, TN22W: $p = .074$).

4.4.2 Auswertung der Muskelfaserbündellängen

Die einzelnen Muskelfaserbündellängen sind in Tab. 32 aufgelistet. Der ANOVA Test ergab signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen bei Woche 0, Woche 6, Woche 16 und Woche 22 (t_0 : $p = .018$, t_6 : $p = .022$, t_{16} : $p = .026$, t_{22} : $p < .001$) (vgl. Abb. 56 und Abb. 58).

Die Faserbündellängen verkürzten sich von Woche 0 zu Woche 22 auf der Interventionsseite (T OP: 55.68 ± 8.43 %, TN6W OP: 62.41 ± 4.90 %, TN22W OP: 74.81 ± 13.54 %) und auf der Kontralateralseite verlängerten sie sich, bzw. waren gleichgeblieben (T K: 123.36 ± 3.85 %, TN6W K: 115.31 ± 14.65 %, TN22W

K: 99.30 ± 1103 %). Dabei waren die Unterschiede zwischen Interventions- und Kontralateralseite in der Kontroll- und Nandrolon-6W-Gruppe signifikant (t-Test, T: $p < .001$, TN6W: $p = .014$, TN22W: $p = .200$) (vgl. Abb. 59).

Im Folgenden wird der prozentuale Anstieg der Faserbündellängen der Interventionsseite an der Kontralateralseite zu den vier Messzeitpunkten dargestellt:

4.4.2.1 Woche 0

Die mittlere Faserbündellänge war auf der Interventionsseite in der Kontroll- sowie Nandrolon-6W-Gruppe in etwa auf einem Niveau und in der Nandrolon-22W-Gruppe signifikant kleiner im Vergleich zur Kontralateralseite (T: 93.68 ± 30.44 %, TN6W: 101.83 ± 40.28 %, TN22W: 61.99 ± 13.39 %; t-Test, TN22W: $p = .001$).

4.4.2.2 Woche 6

Die mittlere Faserbündellänge war auf der Interventionsseite im Vergleich zur Kontralateralseite in der Nandrolon-22W-Gruppe am kleinsten gefolgt von Nandrolon-6W- und Kontrollgruppe (T: 65.29 ± 10.51 %, TN6W: 59.62 ± 8.90 %, TN22W: 48.65 ± 2.82 %). Der Unterschied war in der Kontroll- und Nandrolon-22W-Gruppe signifikant (t-Test, T: $p = .013$, TN22W: $p < .001$).

4.4.2.3 Woche 16

Die mittlere Faserbündellänge war auf der Interventionsseite im Vergleich zur Kontralateralseite in der Kontrollgruppe am kleinsten gefolgt von Nandrolon-6W- und Nandrolon-22W-Gruppe (T: 54.02 ± 9.01 %, TN6W: 60.17 ± 9.57 %, TN22W: 69.04 ± 18.52 %; t-Test, TN22W: $p = .001$). Der Unterschied war in der Kontrollgruppe signifikant, während er in der Nandrolon-6W-Gruppe das Signifikanzniveau knapp verfehlte (t-Test, T: $p = .004$, TN6W: $p = .082$).

4.4.2.4 Woche 22

Die mittlere Faserbündellänge war auf der Interventionsseite im Vergleich zur Kontralateralseite in der Kontrollgruppe und Nandrolon-22W-Gruppe am kleinsten gefolgt von Nandrolon-6W-Gruppe (T: 40.04 ± 5.40 %, TN6W: 54.18 ± 4.37 %, TN22W: 45.83 ± 9.42 %). Alle beschriebenen Unterschiede zwischen der Interventions- und Kontralateralseite waren signifikant (t-Test, T: $p < .001$, TN6W: $p = .001$, TN22W: $p = .003$).

4.4.3 Auswertung der Muskelretraktion

Die einzelnen Muskelretraktionsabstände sind in Tab. 32 aufgelistet. Der Abstand zwischen distaler Infraspinatusgrenze und dorsalem Humeruskopfrand war in der Nandrolon-22W-Gruppe bereits nach 6 Wochen grösser als in den beiden anderen Gruppen (ANOVA: $p = .011$). Nach 16 Wochen nahm die Retraktion des Infraspinatus in der Nandrolon-6W-Gruppe zu, während die der Nandrolon-22W-Gruppe abgenommen hatte, sodass beide bei diesem Zeitpunkt auf gleichem Niveau liegen. 22 Wochen nach Tenotomie war die Muskelretraktion in der Kontrollgruppe leicht vergrößert und erreichte in etwa das Niveau der Nandrolon-6W-Gruppe. Die Retraktion der Nandrolon-22W-Gruppe verstärkte sich nach 22 Wochen leicht im Vergleich zu 16 Wochen nach Tenotomie (vgl. Abb. 61). Die Retraktionsveränderung von Woche 0 zu Woche 22 ist im Vergleich zu den anderen beiden Gruppen in der Nandrolon-22W-Gruppe tendenziell am grössten (ANOVA: $p = .186$) (vgl. Abb. 63).

4.5 Muskelgewichte und -volumina

Die einzelnen Ergebnisse der Gewichts- und Volumenmessung sind in Tab. 13 aufgelistet. Es zeigten sich sowohl bezüglich Gewicht als auch bezüglich Volumen signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (ANOVA, Gewicht: $p < .001$, Volumen: $p < .001$). Sowohl Gewicht als auch Volumen entwickelten sich in Gruppe und Seite nahezu gleich (vgl. Abb. 47). Das Gewicht und das

Volumen waren in der Kontroll-, Nandrolon-6W- und Nandrolon-22W-Gruppe auf der Interventionsseite signifikant kleiner als auf der Kontralateralseite (t-Test, Gewicht: T: $p < .001$, TN6W: $p = .006$, TN22W: $p < .001$; Volumen: T: $p < .001$, TN6W: $p = .004$, TN22W: $p < .001$).

Der M. infraspinatus war im Mittel im Vergleich mit der Kontralateralseite auf der Interventionsseite in der Kontrollgruppe um $30.22 \pm 1.64 \%$, in der Nandrolon-6W-Gruppe um $21.33 \pm 3.87 \%$ und in der Nandrolon-22W-Gruppe um $32.64 \pm 4.44 \%$ atrophiert (vgl. Abb. 49). Die Unterschiede zwischen Kontroll- und Nandrolon-6W-Gruppe (t-Test, $p = .072$) und zwischen Nandrolon-6W- und Nandrolon-22W-Gruppe (t-Test, $p = .082$) waren statistisch nicht signifikant und stellten somit nur eine Tendenz dar.

4.6 Muskelhistologie

Die immunhistochemischen Färbungen stellten auch nach mehrmaligen Wiederholungen eine fleckige Anordnung von intensiv und weniger intensiv gefärbten Bereichen innerhalb jedes Präparates dar. Dabei war vor allem die Braunfärbung der Typ I-Fasern teils derart schwach gefärbt, dass sie fast farblos erschienen, während die Rosafärbung der Typ II-Fasern eine eindeutige Zuordnung des Fasertyps möglich machte. Nachdem sich bei Testfärbungen der Kryoschnitte ähnliche Abweichungen zeigten wurden die Paraffinschnitte aufgrund grösserer Kontinuität zur Auswertung verwendet. In allen Schnitten lagen Hybridfasern vor, die allerdings aufgrund der Doppelimmunhistochemie nicht quantifiziert werden konnten.

4.6.1 Auswertung der Muskelfasermessungen

4.6.1.1 Muskelfaserdurchmesser

Die Mittelwerte aus den drei gemessenen „Region of Interest“ (ROI) sind in Tab. 17 aufgelistet. Betrachtet man den Mittelwert der Faserdurchmesser (FD) so zeigten sich keine signifikanten Unterschiede im Gruppenvergleich. Es war

aber eine Tendenz zu erkennen, dass der FD auf der Interventionsseite (OP) kleiner als auf der Kontralateralseite (K) war (vgl. Abb. 25). In allen drei Gruppen stellte sich auf der Kontralateralseite der Typ I-FD grösser dar als der Typ II-FD (vgl. Abb. 26). Das gleiche Verhältnis zeigte sich auf der Interventionsseite nur in der Nandrolon-6W-Gruppe. In der Kontroll- und Nandrolon-22W-Gruppe waren auf der Interventionsseite die Typ I-FD tendenziell kleiner als die Typ II-FD (vgl. Abb. 26). Die Unterschiede zwischen den FD lassen sich der Abb. 27 entnehmen, in welcher der Quotient (Ratio) aus Typ I-FD (Zähler) gegen Typ II-FD (Nenner) aufgetragen ist (vgl. Abb. 27).

Im Folgenden werden die fasertypspezifischen Unterschiede der einzelnen Gruppen beschrieben:

4.6.1.1.1 Kontrollgruppe (T)

Der Typ I-FD war auf der Interventionsseite signifikant kleiner als auf der Kontralateralseite (t-Test, $p = .026$). Dagegen zeigen sich keine Unterschiede im FD der Typ II-Fasern.

4.6.1.1.2 Nandrolon-6W-Gruppe (TN6W)

Es lagen keine signifikanten Unterschiede vor, allerdings zeigten sich hier als einzige Gruppe auf der Interventionsseite tendenziell grössere Typ I- als Typ II-FD.

4.6.1.1.3 Nandrolon-22W-Gruppe (TN22W)

Die Typ I-FD auf der Interventionsseite waren signifikant kleiner und die Typ II-FD tendenziell grösser als auf der Kontralateralseite (t-Test, Typ I: $p = .01$ und Typ II: $p = .077$).

4.6.1.2 Muskelfasergehalt pro Gesichtsfeld

Die genauen Ergebnisse der Pixelzählung und der prozentualen Fläche sind in den entsprechenden Tabellen im Anhang aufgelistet (vgl. Tab. 19, Tab. 23, Tab.

22 und Tab. 26). Die relative Fläche der Gesamtmuskulatur (Summe aus Typ I- und Typ II-Anteil) war auf der Interventionsseite der Kontrollgruppe signifikant kleiner als auf der Kontralateralseite (t-Test, T: $p = .036$). Die Unterschiede stellten sich in der Nandrolon-6W- und Nandrolon-22W-Gruppe ähnlich dar, auch wenn diese das Signifikanzniveau knapp verfehlten (t-Test, TN6W: $p = .058$ und TN22W: $p = .060$). Auffällig war der Unterschied der Prozentpunkte zwischen Interventions- und Kontralateralseite in der Kontroll- und Nandrolon-6W-Gruppe ähnlich ist (T OP = 66.88 ± 7.41 %, T K = 87.74 ± 1.63 % und TN6W OP = 66.54 ± 9.38 %, TN6W K = 87.72 ± 3.2 %), wohingegen der entsprechende Abstand in der Nandrolon-22W-Gruppe kleiner ausfiel (TN22W OP: 77.37 ± 6.26 % und TN22W K: 92.53 ± 0.93 %) (vgl. Abb. 28). Des Weiteren war zu erkennen, dass die Relationen zwischen Typ I- und Typ II-Fasern in allen Gruppen mit Ausnahme der Kontralateralseiten der Kontroll- und Nandrolon-6W-Gruppen den Relationen der Faserdurchmesser entsprechen, wobei sich die Unterschiede zwischen Interventions- und Kontralateralseite in der Flächenmessung grösser darstellten (vgl. Abb. 31). Im Folgenden wird das Verhältnis der Typ I- zu Typ II-Fasern der einzelnen Gruppen genauer beschrieben:

4.6.1.2.1 Kontrollgruppe (T)

Sowohl auf Interventions- als auch auf Kontralateralseite war der Typ I-Fasergehalt geringer als der Typ-II-Fasergehalt. Auf der Interventionsseite war der Typ II-Fasergehalt signifikant geringer als auf der Kontralateralseite (t-Test, $p = .049$) (vgl. Abb. 29).

4.6.1.2.2 Nandrolon-6W-Gruppe (TN6W)

Auf der Interventionsseite war der Typ I-Faseranteil grösser und auf der Kontralateralseite kleiner als der Typ II-Faseranteil. Die relative Fläche der Typ II-Fasern war auf der Interventionsseite geringer als auf der Kontralateralseite

und verfehlte das Signifikanzniveau knapp (t-Test, $p = .082$) (vgl. Abb. 29 und Abb. 30).

4.6.1.2.3 Nandrolon-22W-Gruppe (TN22W)

Der Typ I-Faseranteil war auf der Interventionsseite kleiner und auf der Kontralateralseite grösser als der Typ II-Faseranteil. Auffällig war ausserdem, dass der Typ I-Faseranteil auf der Interventionsseite signifikant kleiner als auf der Kontralateralseite war (t-Test, $p = .007$). Die Typ II-Fasergehalte waren beiderseits ähnlich (vgl. Abb. 29).

4.6.1.3 Muskelfaseranzahl pro Gesichtsfeld

Bezüglich der Typ I- sowie Typ II-Faseranzahl lagen zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede vor (ANOVA, Typ I: $p = .670$ und Typ II: $p = .376$). In allen Gruppen fanden sich auf beiden Seiten tendenziell mehr Typ II- als Typ I-Fasern in einem Gesichtsfeld vor (Ausnahme: Interventionsseite Nandrolon-6W-Gruppe) (vgl. Abb. 36).

In der Kontrollgruppe war der Unterschied zwischen Typ I- und Typ II-Faseranzahl auf der Kontralateralseite wesentlich grösser als auf der Interventionsseite und gemessen am Quotienten aus Typ I- und Typ II-Faseranzahl signifikant (OP: $89.06 \pm 10.98 \%$ und K: $58.37 \pm 4.97 \%$; t-Test, $p = .038$; vgl. Abb. 37).

In der Nandrolon-6W-Gruppe lagen auf der Interventionsseite mehr Typ I- als Typ II-Fasern vor und auf der Kontralateralseite war dies umgekehrt (vgl. Abb. 37).

In der Nandrolon-22W-Gruppe lagen tendenziell sowohl bei den Typ I-Fasern als auch bei den Typ II-Fasern auf der Kontralateralseite eine höhere Anzahl als auf der Interventionsseite vor (vgl. Abb. 36). Das Verhältnis Typ I- zu Typ II-Faseranzahl war auf beiden Seiten ähnlich (vgl. Abb. 37).

4.6.1.4 Muskelfaserquerschnittsfläche

Die Querschnittsfläche pro Einzelfaser errechnete sich aus dem Quotienten aus Pixelanzahl (Zähler) und Faseranzahl pro Gesichtsfeld (Nenner) multipliziert mit dem Faktor $0.12 \mu\text{m}^2/\text{px}$. Die ROI-Mittelwerte dieser Berechnungen sind in der Tab. 30 aufgelistet. Betrachtet man den Mittelwert aus Typ I- und Typ II-Querschnittsfläche so zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Allerdings waren auf der Interventionsseite die Querschnittsflächen in der Nandrolon-22W-Gruppe tendenziell grösser als in der Kontroll- und Nandrolon-6W-Gruppe. In allen Gruppen und beiden Seiten zeigten die Typ I-Fasern tendenziell eine grössere Querschnittsfläche (QS) als die Typ II-Fasern (Ausnahme: auf Interventionsseite der Kontroll- und Nandrolon-22W-Gruppe sind Typ I-Faserquerschnitte kleiner als Typ II-Faserquerschnitte) (vgl. Abb. 39). Ausser in der Kontralateralseite der Nandrolon-22W-Gruppe entsprachen die Quotienten der Typ I- zu Typ II-Fasern in jeder Gruppe den Quotienten der Faserdurchmesser (vgl. Abb. 38). Im Folgenden werden die Fasertypunterschiede innerhalb der Gruppen genauer beschrieben:

4.6.1.4.1 Kontrollgruppe (T)

In der Kontrollgruppe waren die QS der Typ I-Fasern auf der Interventionsseite signifikant kleiner als auf der Kontralateralseite (t-Test, $p = .029$). Dagegen unterschieden sich die QS der Typ II-Fasern im Seitenvergleich kaum.

4.6.1.4.2 Nandrolon-6W-Gruppe (TN6W)

Auffällig war, dass die QS der Typ I-Fasern auf der Interventionsseite tendenziell grösser als die QS der Typ II-Fasern waren. Es ergaben sich jedoch keine signifikanten Unterschiede.

4.6.1.4.3 Nandrolon-22W-Gruppe (TN22W)

In der Kontrollgruppe waren die QS der Typ I-Fasern auf der Interventionsseite kleiner als auf der Kontralateralseite, verfehlten aber knapp das Signifikanz-

niveau (t-Test, $p = .053$). Die QS der Typ II-Fasern waren auf der Interventionsseite tendenziell grösser als auf der Kontralateralseite.

4.6.2 Auswertung der Fettmessungen

4.6.2.1 Relativer Fettgehalt der Paraffinschnitte

Dieser Abschnitt beschreibt die prozentualen Fettgehalte aus den histomorphometrischen Resultaten der immunhistochemisch gefärbten Gewebeschnitten. Die einzelnen ROI-Mittelwerte der Pixelzählung sowie die errechneten Prozentpunkte sind den entsprechenden Tabellen im Anhang zu entnehmen (vgl. Tab. 19, Tab. 23, Tab. 22 und Tab. 26). Im Gesamtfettgehalt (Summe aus endo- und perimysialen Fetts = F_{total}) als auch in der Differenzierung in endo- und perimysialen Fetts zeigten sich zwischen den Gruppen signifikante Unterschiede (ANOVA, F_{endo} : $p < .001$, F_{peri} : $p = .003$, F_{total} : $p = .001$) (vgl. Abb. 41 und Abb. 42). Der Gesamtfettgehalt war in allen Gruppen auf der Interventionsseite (OP) signifikant grösser als auf der Kontralateralseite (K) (t-Test, T: $p = .039$, TN6W: $p = .010$, TN22W: $p = .046$).

Auf der Interventionsseite war der Gesamtfettgehalt der Kontrollgruppe ähnlich zur Nandrolon-6W-Gruppe. Daneben war der Gesamtfettgehalt in der Nandrolon-22W-Gruppe signifikant kleiner als in der Nandrolon-6W-Gruppe (t-Test, N6W: $p = .046$) und auch kleiner als in der Kontrollgruppe, wobei das Signifikanzniveau aufgrund des relativ grossen Standardfehlers in der Kontrollgruppe verfehlt wurde (t-Test, T: $p = .086$) (vgl. Abb. 41).

Der endomysiale Fettgehalt war innerhalb jeder Gruppe kleiner als der perimysiale. Der endomysiale Fettgehalt war auf der Interventionsseite sowohl in der Kontroll- als auch in der Nandrolon-6W-Gruppe signifikant grösser als in der Nandrolon-22W-Gruppe (t-Test, T: $p = .047$, TN6W: $p = .002$). In der Nandrolon-6W-Gruppe war der endomysiale Fettgehalt tendenziell kleiner als in der Kontrollgruppe, wobei dies nicht signifikant war (t-Test, $p = .422$) (vgl. Abb. 42).

In der Nandrolon-6W-Gruppe war der Unterschied zwischen endo- und perimysialen Fettgehalt auf der Interventionsseite tendenziell grösser und auf der Kontralateralseite tendenziell kleiner als in Kontroll- und Nandrolon-22W-Gruppe (vgl. Abb. 43).

Im Folgenden wird das Verhältnis endo- zu perimysialem Fett innerhalb der einzelnen Gruppen beschrieben:

4.6.2.1.1 Kontrollgruppe (T)

Sowohl der endo- als auch perimysiale Fettgehalt war im tenotomierten M. infraspinatus signifikant grösser als auf der Kontralateralseite (t-Test, Fendo: $p = .019$, Fperi: $p = .026$) (vgl. Abb. 42).

4.6.2.1.2 Nandrolon-6W-Gruppe (TN6W)

Auch hier stellte sich der endo- und perimysiale Fettgehalt auf der Interventionsseite signifikant grösser als auf der Kontralateralseite dar (t-Test, Fendo: $p < .001$, Fperi: $p = .024$) (vgl. Abb. 42).

4.6.2.1.3 Nandrolon-22W-Gruppe (TN22W)

Der endo- und perimysiale Fettgehalt war auf der Interventionsseite grösser als auf der Kontralateralseite. Ein signifikanter Unterschied zeigte sich jedoch nur im endomysialen Anteil (t-Test, Fendo: $p = .002$, Fperi: $p = .148$) (vgl. Abb. 42).

4.6.2.2 *Relativer Fettgehalt der Kryoschnitte*

Dieser Abschnitt beschreibt die histomorphometrischen Resultate der mit Ölrot gefärbten Schnitte der Nandrolon-6W- und Nandrolon-22W-Gruppe und dient zur Verifizierung der Fettbestimmung aus den immunhistochemisch gefärbten Präparaten. Um das Fett im Gewebe zu erhalten, wurden die Ölrotfärbungen aus den Kryobiopsien angefertigt. Bei der Kontrollgruppe sowie bei Tier 29.09 beidseits und 29.14 nur kontralateral liegen keine Kryobiopsien vor, weshalb die Parameter bei der Auswertung fehlen. Die ROI-Mittelwerte der einzelnen

Pixelzählungen sowie Prozentberechnungen sind den Tabellen im Anhang zu entnehmen (vgl. Tab. 27 und Tab. 28). Zwischen den Gruppen zeigte sich im ANOVA-Test ein signifikanter Unterschied (ANOVA, $p = .019$). Der Fettgehalt in der Nandrolon-6W-Gruppe war auf der Interventionsseite tendenziell und auf der Kontralateralseite signifikant grösser als in der Nandrolon-22W-Gruppe (t-Test, $p = .013$). In der Nandrolon-6W-Gruppe waren die Fettgehalte auf der Interventionsseite signifikant grösser als auf der Kontralateralseite (t-Test, TN6W: $p = .006$). Der gleiche Unterschied zeichnete sich auch in der Nandrolon-22W-Gruppe ab, wenn auch das Signifikanzniveau verfehlt wurde (t-Test, N22W: $p = .078$).

Die Daten zeigten im Vergleich zu den histomorphometrischen Daten der immunhistochemisch gefärbten Präparate keine signifikanten Unterschiede (vgl. Abb. 44).

4.6.3 Auswertung der Bindegewebemessung

In allen drei Gruppen war auf der Interventionsseite der prozentuale Anteil an Bindegewebe grösser als auf der Kontralateralseite (vgl. Abb. 45). Dieser Unterschied war in der Nandrolon-22W-Gruppe am grössten, gefolgt von Nandrolon-6W- und Kontrollgruppe auf ähnlichem Niveau. Der p-Wert erreichte allerdings in allen drei Gruppen das Signifikanzniveau nicht (t-Test, T: $p = .090$, TN6W: $p = .229$, TN22W: $p = .061$). Der Bindegewebeanteil war auf der Interventionsseite in allen Gruppen ähnlich und auf der Kontralateralseite in der Kontrollgruppe signifikant grösser als in der Nandrolon-22W-Gruppe (t-Test, $p = .036$). Der Bindegewebegehalt der Nandrolon-6W-Gruppe zeigte trotz ähnlichen Niveaus zur Kontrollgruppe aufgrund grösseren Standardfehlers keine Signifikanz im Vergleich zur Nandrolon-22W-Gruppe (t-Test, $p = .217$).

4.6.4 Qualitative Beurteilung

4.6.4.1 Fettvakuolen

In der Übersichtsvergrößerung zeigte sich in den Muskelgewebeschnitten der Interventionsseiten der Kontroll- und Nandrolon-6W-Gruppe ein vermehrter Gehalt an Fettvakuolen (vgl. Abb. 64).

4.6.4.2 Abnorme Muskelfasern

Auf der Interventions- und Kontralateralseite waren in der Kontrollgruppe sowie auf der Kontralateralseite in der Nandrolon-6W-Gruppe vereinzelt abnorme Muskelfasern (typunspezifisch) (vgl. Tab. 4, Seite 35) zu finden. Abnorme Typ I Muskelfasern zeigten sich nur in geringem Masse und abnorme Typ II Fasern liegen in der Nandrolon-6W-Gruppe bei 4 Tieren auf der Kontralateralseite in geringem Masse vor (vgl. Abb. 65, Abb. 66 und Abb. 67).

4.6.4.3 Innenkerne

In einige Muskelfasern waren Innenkerne zu finden, wobei diese auf der Interventionsseite häufiger vorkamen als auf der Kontralateralseite. Auf der Kontralateralseite gab es in der Kontroll-Gruppe noch 3 Tiere, die in den untersuchten Gesichtsfeldern Zellen mit Innenkernen zeigten, während in der Nandrolon-6W-Gruppe nur 1 Tier zentral gelegene Zellkerne aufwies. In der Nandrolon-22W-Gruppe waren auf der Kontralateralseite keine Innenkerne zu erkennen (vgl. Abb. 68).

4.6.4.4 Entzündungszellen im Interstitium

In mehr als 50 % der Gewebeschnitte aller drei Gruppen lagen auf der Interventionsseite Entzündungszellen im Interstitium vor. Diese kamen am häufigsten in der Kontrollgruppe gefolgt von der Nandrolon-6W-Gruppe und am wenigsten in der Nandrolon-22W-Gruppe vor (vgl. Abb. 69).

4.6.4.5 *Intrazelluläre Parasiten*

In mindestens einem Tier pro Gruppe lagen intrazelluläre Parasiten (*Sarcocystis* spp.) in den untersuchten Gesichtsfelder vor, die in Ihrer Verteilung weder Gruppen- noch Seitenpräferenzen zeigten (vgl. Abb. 70). Befallene Muskelfasern wurden bei den entsprechenden Messungen exkludiert oder als Artefakt gewertet.

4.6.4.6 *Technische Artefakte*

In allen Gewebeschnitten lagen technische Artefakte vor, die in ihrer Verteilung weder Gruppen- noch Seitenpräferenzen zeigten (vgl. Abb. 71).

5 Diskussion

In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass Nandrolon in der Akutbehandlung, d.h. unmittelbar ab Schadenszeitpunkt, eine gewisse Prävention struktureller Muskelveränderungen auslöst. In dieser Behandlungsgruppe zeigen die Resultate eine Verminderung in Atrophie, fettiger Infiltration, Faserbündellängenverkürzung sowie Fiederungswinkelvergrösserung.

Ergänzend zu vorherigen Studien über fettige Infiltration und Atrophie am Kaninchen [7, 75] bestätigt die vorliegende Studie, dass sich Nandroloneffekte bei generalisierter Applikation ebenfalls im höher entwickelten Tiermodell zeigen. Daneben zeigt sich aber auch, dass die Muskelretraktion unter Nandrolonanwendung verstärkt ist. Ausserdem stellt sich in der Fettverteilung dar, dass die Nandrolonbehandlung erst ab Reparationszeitpunkt verabreicht eine relative Verminderung verstärkt im epimysialen Fett bewirkt.

Unerklärt ist die Tatsache, dass die Infraspinatusmuskeln (ISP) der Gruppe mit Nandrolonbehandlung ab chirurgischer RepARATION sowohl im Volumen als auch im Gewicht am grössten sind, während die ISP-Volumen/Gewichte der Gruppe mit Nandrolonbehandlung ab Schadensereignis sogar kleiner sind als in der Kontrollgruppe. Diese Tatsache sollte in einer weiterführenden Studie näher erörtert werden.

5.1 Methodenkritik

Immunhistochemische Fasertypisierung am Schaf stellt eine grosse Herausforderung dar [76], weil es kaum etablierte Methoden gibt. Die durchgeführte Methode lässt zwar eine Differenzierung in Typ I- und Typ II-Fasern zu [77], jedoch erweist sich die Interpretation der Fasertypprofile aufgrund der Fülle verschiedener einflussnehmenden Faktoren als sehr schwierig [78, 79]. Zum einen gibt es zahlreiche Erkrankungsbilder, die individuelle Veränderungen im Fasertypverteilungsmuster zur Folge haben [58]. Zum anderen hat Suzuki et al. gezeigt, dass es im physiologischen Zustand nicht nur individuelle Faser-

typprofile pro Muskeltyp in Abhängigkeit seiner anatomischen Funktion (vermehrte Stütz-/Halte- gegenüber vermehrter Bewegungsfunktion) gibt, sondern dass ein Muskel in Gebiete mit funktionell unterschiedlichen Fasertypprofilen unterteilt werden kann. So zeigen Muskelbereiche, die aufgrund ihrer Lage funktionell mehr in Bewegungsabläufe integriert sind, höhere Fasergehalte vom schnellen Typ (Typ II) und Muskelbereiche, die funktionell mehr Halte- und Stützfunktionen übernehmen höhere Fasergehalte vom langsamen Typ (Typ I) [79]. Daneben konnte Loughna et al. zeigen, dass die Exprimierung der Myosin-Heavy-Chain-(MHC)-Genfamilie, die für die Codierung der Fasertypen verantwortlich ist, dehnungsabhängig sehr grossen Änderungen unterworfen ist. So zeigten Gliedmassen, die in gebeugter Position immobilisiert wurden eine Muskelatrophie mit einer langsam-zu-schnell Fasertypverschiebung und Gliedmassen, die in gestreckter Position immobilisiert wurden, eine Hypertrophie mit einer schnell-zu-langsam Verschiebung [78].

Daher sollten Fasertypprofilen sowohl innerhalb einer Spezies als auch besonders im Speziesvergleich (Muskelfunktionsunterschiede zwischen Spezies vgl. Kap. 2.3) nur mit grosser Sorgfalt interpretiert werden. Aufgrund dieser Interpretationsproblematik wurde in der vorliegenden Studie auf eine wesentlich aufwendigere erweiterte Differenzierung der Fasertypen verzichtet. Aufgrund der Anwendung einer Doppelfärbung konnte der Gehalt der sogenannten Hybridfasern (Übergangsform zwischen Typ I- und Typ II-Fasern, sowohl braun als auch rosa gefärbt) nicht quantifiziert werden. Bei den immunhistochemisch gefärbten Schnitten kam es zusätzlich zu technischen Schwierigkeiten. Auch nach mehrmaligen Wiederholungen zeigten die meisten Schnitte ungleichmässig verteilte Areale von stärkerer und schwächerer Färbung. Ausserdem gab es bei vielen Schnitten ein verstärktes Problem mit dem Anti-Myosin-Antikörper (Typ I) und als Folge davon stellte sich die Braunfärbung in einigen Schnitten wenig intensiv bis fast farblos dar. Da die Rosafärbung

deutlicher war, könnte davon ausgegangen werden, dass der Gehalt an Typ II-Fasern in den Resultaten zu hoch ausgefallen ist. Da die Fasertypzuordnung wie im Methodenteil (vgl. Kap. 3.7.3) beschrieben nach der dominanteren Färbung erfolgte, wurde eine schwachrosa gefärbte Faser in einem Bereich ohne Braunfärbung als Typ II-Faser klassifiziert, während bei korrekter Braunfärbung die gleiche Faser als Typ I-Faser klassifiziert worden wäre. Da der Hybridfasergehalt nicht bestimmt werden konnte, liess sich die Fehlergrösse nicht wirklich prognostizieren. Aufgrund der genannten Probleme in der immunhistochemischen Färbemethode und der generellen Interpretationsschwierigkeit [78, 79] können die Fasertypisierungsergebnisse lediglich dem Anspruch genügen etwaige Tendenzen aufzuzeigen. Warum diese Färbungsunterschiede bei identischem Protokoll auftraten, konnte nicht herausgefunden werden. Es wurde lediglich vermutet, dass die Antikörper eventuell beim Schaf nicht so spezifisch reagieren aufgrund möglicher Homologie-Unterschiede zwischen Schaf und Mensch bzw. Kaninchen.

Nebst der Fasertypenspezifizierung liegen bei den MRT-Resultaten auch zum Teil widersprüchliche Beobachtungen vor, für die keine abschliessende Erklärung gefunden wurde. In Woche 0 bei Tieren der Nandrolon-22W-Gruppe sind deutlich grössere Fiederungswinkel und kleinere Faserbündellängen zu finden als in den anderen beiden Gruppen, obwohl die Behandlung aller drei Gruppen bis zu diesem Zeitpunkt identisch war. Bei der genaueren Analyse sind zwei Ausreisser in dieser Gruppe aufgefallen (Tier 29.14 und 29.16). Die Neuberechnung unter Exklusion der genannten Tiere zeigten zwar leicht abgeschwächte aber nach wie vor deutliche Unterschiede in der Nandrolon-22W-Gruppe im Vergleich mit den beiden anderen Gruppen (vgl. Abb. 52 und Abb. 57). Diese Abweichung in Woche 0 zeigt, dass entweder die Messmethode hierfür nicht genau genug oder die natürliche Streuung der Fiederungswinkel nach der Tenotomie so gross ist, dass eine repräsentative Darstellung eine grössere Stichprobenzahl pro Gruppe benötigen würde. Die gleichen Fiederungswinkel

und Faserbündellängen in der Kontroll- und Nandrolon-6W-Gruppe müssten in letzterem Falle als Zufallsbefunde gesehen und die Interpretation aller Fiederungswinkel- und Faserbündellängenmessungen leicht in Frage gestellt werden. Falls die Unterschiede jedoch wirklich für diese Gruppe bestanden, konnte dafür kein systemischer Grund eruiert werden, da alle Gruppen identisch behandelt wurden.

Bei allen MRT-Messungen muss ausserdem berücksichtigt werden, dass der ISP in den MRT-Bildern der noch nicht refixierten Zeitpunkte (Woche 0, Woche 6 und Woche 16) einen frei in der Schulter liegenden Sehnenstumpf aufweist und sich die humerusseitige Ansatzsehne bewegungs- und lagerungsabhängig in ihrer Lokalisation verändern kann. Unter Umständen bietet dies einen Erklärungsansatz für die hohen Variabilitäten und teilweise unerklärbaren Ergebnisse im Zeitvergleich der MRT-Messungen. Trotz standardisierter Lagerung in MRT und CT, gibt es teilweise Aufnahmen in denen es zu starker Hautfaltenbildung gekommen ist, was evtl. eine Verschiebung auf die tieferen Muskelschichten verursacht haben könnte (vgl. Abb. 23). Wahrscheinlicher ist jedoch, dass es beispielsweise beim Überheben eines 60 kg schweren Tieres vom Transportwagen auf den MRT Tisch zu anderen Verschiebungen des freien Sehnenstumpfes gekommen ist, als man das Tier von rechter oder von linker Seitenlage in die Dorsallagerung überführte.

Abschliessend bleibt zu erwähnen, dass eine Tierversuchsstudie am Grosstier kaum den Standardisierungen im Kleintiermodell gerecht werden kann und die Variabilität sehr hoch ist. Standardisierungen im Kleintiermodell wie die SPF-Tierhaltung (spezifisch pathogenfrei) können aufgrund von Unvereinbarkeit mit ethischen Bedingungen im Schafmodell nicht umgesetzt werden. Auch können keine genetisch identischen Tiere eingesetzt werden. Auf der anderen Seite können bei präklinischen Studien diese Variabilitäten auch von Vorteil sein, da sie in der Zielspezies Mensch gleichermassen auftreten [14].

5.2 Resultate

Die ISP der Kontrollgruppe zeigen auf der Interventionsseite Atrophie (vgl. Abb. 25, Abb. 28, Abb. 38 und Abb. 47), fettige Infiltration (vgl. Abb. 41), Bindegewebeerhöhung (vgl. Abb. 45), Fiederungswinkelvergrößerung (vgl. Abb. 54), Faserbündelverkürzung (vgl. Abb. 59) und verdeutlichen mit diesen Kriterien, dass das etablierte Tierversuchsmodell zur RM-Ruptur erfolgreich reproduziert werden konnte [7, 8, 14-20]. Die Sehnendurchtrennung in dem angewandten Tiermodell führt zu den wie in der Literatur beschriebenen strukturellen und funktionellen Veränderungen der Muskulatur [43].

Nach den Resultaten der Faserdurchmesser (vgl. Abb. 25), der relativen Muskelfasergehalte (vgl. Abb. 28) und der absoluten Muskelfaserquerschnitte (vgl. Abb. 38) vermindert die Nandrolonbehandlung ab Schadensereignis die Faseratrophie. Wie in der Literatur beschrieben korreliert die fettige Degeneration mit Atrophie des Muskels [44], wohingegen sich in der vorliegenden Studie in der Nandrolon-22W-Gruppe ein umgekehrter Zusammenhang mit Verminderung von Atrophie und fettiger Infiltration zeigt. In der Literatur werden sowohl positive Effekte [7] als auch ausbleibende [8] oder negative [80] Effekte von Nandrolon auf die strukturellen Veränderungen beschrieben. Hier zeigt die Akutbehandlung im Schafmodell einen positiven Effekt, wobei mit den vorliegenden Resultaten nicht genau bestimmt werden kann, ob die Nandrolonbehandlung einen schützenden Effekt vor den Degenerationsprozessen und/oder einen unterstützenden Effekt auf die Regenerationsprozesse hat. Da allerdings die Nandrolon-6W-Gruppe keine Hypertrophie im FD der Interventionsseite zeigt (vgl. Abb. 25), vermindert die Nandrolonbehandlung ab Schadensereignis vermutlich vermehrt die Degeneration als die Regeneration zu unterstützen. Für genauere Interpretationen des zeitlichen Eintretens von Nandroloneffekten bleibt die Beschreibung der im zeitlichen Verlauf entnommenen Bergströmbiopsien in einer anderen Publikation abzuwarten.

Die Nandrolonbehandlung ab chirurgischem Reparationszeitpunkt ruft auf der Interventionsseite das gleiche Fasertypverhältniss wie auf der Kontralateralseite hervor, während es bei der Nandrolon-22W- sowie Kontrollgruppe zur Umkehrung der Verhältnisse und zu stärkerer Ausprägung des Unterschieds kommt (vgl. Abb. 27). Nandrolon könnte daher bei Applikation ab chirurgischer Reparatation helfen das für die anatomische Funktion des Muskels typische Verhältnis aus Halte- und Stützmuskelfasern (langsam zuckende Typ I-Fasern) sowie Bewegungsfasern (schnell zuckende Typ II-Fasern) hervorzurufen. Die in der Literatur als Faserdurchmesser im gesunden Schaf angegebenen Werte an vergleichbarer Biopsiestelle bestätigen diese fasertypspezifische FD-Messmethode [79] (vgl. Tab. 6).

Tab. 6: Vergleich Faserdurchmessermessung mit Literatur

	Suzuki et al. [79]	Mittelwerte aller Kontralateral-seiten dieser Studie
Typ I	59.9 μm	58.5 μm
Typ II	47.85 μm	49.86 μm

Die Bestimmung der Faseranzahl dient hauptsächlich der Berechnung des absoluten Faserquerschnittes. Die Faseranzahlen beziehen sich auf die untersuchten Gesichtsfelder und nicht auf den gesamten Muskel. Je grösser die Fasern und je mehr Bindegewebe oder Fett in das Gewebe eingelagert ist, desto weniger Fasern konnten pro Gesichtsfeld gezählt werden. Zur Interpretation ist daher die Quantität dieses Messparameters weniger ausschlaggebend als das Fasertypenverhältnis im Seitenvergleich. Zur quantitativen Beurteilung wird hier auf den absoluten Faserquerschnitt (berechnet aus relativem Faseranteil pro Gesichtsfeld geteilt durch Faseranzahl pro Gesichtsfeld mal Umrechnungsfaktor) verwiesen. Auffällig ist, dass die Nandrolonbehandlung ab Schadensereignis ein ausgeglichenes Verhältnis der Fasertypanzahlen zwischen Kontralateral- und Interventionsseite schafft (vgl. Abb. 37).

In allen Gruppen ist auf der Interventionsseite der relative Muskelfasergehalt deutlich geringer als auf der Kontralateralseite, wobei der Unterschied in der Nandrolon-22W-Gruppe am geringsten ist. Dabei zeigt die Nandrolon-22W-Gruppe im Seitenvergleich eine deutliche langsam-zu-schnell Fasertypverschiebung, wohingegen die Nandrolon-6W-Gruppe eine schnell-zu-langsam Fasertypverschiebung aufzeigt (vgl. Abb. 34). Die langsam-zu-schnell Verschiebung ist ein charakteristisches Zeichen für Atrophie wie sie auch nach Gliedmassenimmobilisation durch Cast in der Ratte [36], nach Bettruhe beim Menschen [81] oder bei Gravitationsverlust bei der Ratte [82] auftritt. Die schnell-zu-langsam Verschiebung wurde nach Hungerphasen [83], nach Glukokortikoidbehandlung [84] oder nach Patienten mit Septikämie [85] beobachtet. Da alle Tiere unter den gleichen Bedingungen gehalten, sie keine Septikämie aufzeigten und auch nicht mit Glukokortikoiden behandelt wurden, kann anhand der genannten Standardschemata keine aufschlussreiche Interpretation der Fasertypverhältnisse erfolgen. Wir haben keine wissenschaftliche Erklärung für die in den Fasertypisierungsergebnissen auftretenden Differenzen, sodass die beschriebenen technischen Probleme vermutlich als Ursache zu sehen sind und eine vertiefende Interpretation der Fasertypen erschweren. Suzuki et. al. hat in einer Fasertypverteilungsstudie an einer ähnlichen Biopsiestelle 30.6 % Typ I- und 69.4 % Typ II-Fasern gemessen, allerdings unter Anwendung einer histochemischen Typisierungsmethode nach Peter et al. [79, 86]. In unserer Studie wurden in der Kontrollgruppe auf der gesunden Kontralateralseite 35.35 ± 2.24 % Typ I- und 52.39 ± 2.01 % Typ II-Fasern gemessen, die vor allem in den Typ II-Fasergehalten eine mehr als 15%ige Abweichung darstellen. Eine Erklärung liefert vermutlich die beschriebene Methodenkritik der Immunhistochemie.

Nach Berechnung des absoluten Faserquerschnitts aus dem Quotienten der Faseranzahl sowie der relativen Muskelfasergehalte zeigt sich in den Fasertypverhältnissen ein etwas anderes Bild. Sowohl die Kontroll- als auch die

Nandrolon-22W-Gruppe zeigen im absoluten Faserquerschnitt eine langsam-zu-schnell Fasertypverschiebung (vgl. Abb. 39). In der Kontrollgruppe zeigt sich der Unterschied aufgrund einer Typ I-Atrophie und in der Nandrolon-22W-Gruppe aufgrund einer deutlichen Typ I-Atrophie und einer Typ II-Hypertrophie. In der Nandrolon-6W-Gruppe zeigt sich hier weder eine Fasertypverschiebung, noch eine Typ II-Hypertrophie, was entweder an einer bereits eingesetzten wie von Gerber et al. beschriebenen Resistenz aufgrund fehlender mechanischer Stimuli [19] und/oder an der ausbleibenden Nandrolonkonfrontation vor Reparation liegen könnte. Statistisch stellt der aus dem oben beschriebenen Quotienten berechnete Parameter vermutlich den verlässlichsten Wert dar, allerdings bleibt die beschriebene Kritik der Fasertypinterpretation bestehen. Falls die Fasertypisierung als verlässlich angesehen würde, könnte die Hypertrophie der Typ II-Fasern für einen Trainingseffekt sprechen wie er beispielsweise im Zwerchfellmuskel gezeigt wurde [87]. Dieser Effekt würde nach den vorliegenden Resultaten nur nach Akutbehandlung mit Nandrolon stattfinden. Es könnte allerdings auch sein, dass keine Hypertrophie der Fasern erfolgt ist, da sie nach wie vor auf der Interventionsseite kleiner sind als auf der gesunden Kontralateralseite. In diesem Falle könnten verstärkt die Typ I-Fasern einer Atrophie unterlegen sein und erst in zweiter Linie hätte eine Typ II-Faseratrophie stattgefunden, wie von Jozsa et al. beschrieben [37]. Da die Typ I-Fasern in der Nandrolon-6W-Gruppe weniger atrophiert sind, könnte man in der logischen Konsequenz einen hemmenden Effekt auf die Typ I-Fasern bei Nandrolonbehandlung ab chirurgischer Reparation ableiten, der sich nicht unbedingt im Mittelwert darstellen müsste.

Der ausbleibende Effekt des Nandrolons nach Behandlung ab Refixationszeitpunktes unterstützt die Untersuchung von Gerber et al., dass die Nandrolonsensibilität nach RM-Ruptur und Muskelretraktion vermindert wird [19]. Derzeit werden diesbezüglich vertiefende Untersuchungen an der Universitätsklinik Balgrist über die Regulation der Androgenrezeptoren erstellt.

Die hier zu findende fettige Infiltration bestätigt die Erkenntnisse aus einer Studie von Gerber et al. [14]. Der Fettgehalt ist in allen Gruppen auf der Kontralateralseite deutlich erhöht, wobei der Unterschied in der Nandrolon-22W-Gruppe am geringsten ausfällt. Wiederum zeigt sich hier, dass Nandrolonbehandlung ab Schadenszeitpunkt einen schützenden Effekt auf die strukturelle Veränderung hat, indem sie die fettige Infiltration vermindert. Der Unterschied ist zwischen Interventions- und Kontralateralseiten besonders im endomysialen Fettgehalt in der Kontrollgruppe am grössten, gefolgt von der Nandrolon-6W-Gruppe und Nandrolon-22W-Gruppe (vgl. Abb. 3). Gerber et al. hat in einer Studie gezeigt, dass sich nach der Refixation Fett sowohl zwischen die Muskelfasern (endomysial) als auch zwischen die Muskelfaserbündel (perimysial) einlagert [14]. Im Fettverteilungsmuster dieser Studie sieht man, dass Nandrolon unabhängig von dem Applikationszeitpunkt im relativen Seitenvergleich einen Einfluss verstärkt auf die endomysiale Fettverteilung hat (vgl. Abb. 3).

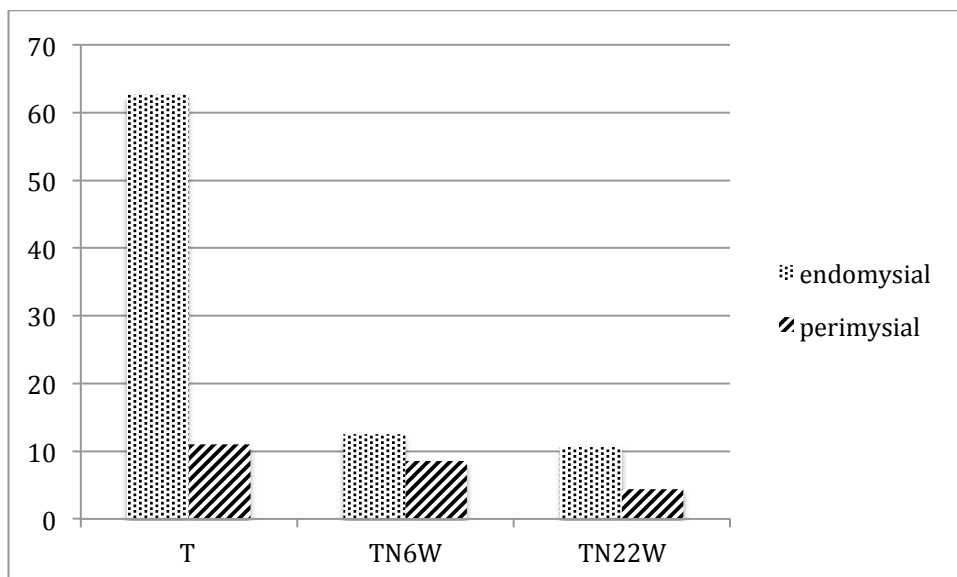


Abb. 3: Fettverteilung: Kontralateral- über Interventionsseite, (Fold Change = 1 / (K/OP))

Ein ähnlicher Effekt ist abgeschwächter auch im perimysialen Fett zu sehen. Nach Kenntnisstand des Autors ist diese Wirkung bisher in der Literatur nicht

beschrieben. In der nicht mit Nandrolon behandelten Kontrollgruppe zeigt sich beispielsweise ein über 60-mal höherer Fettgehalt im Endomysium auf der Interventionsseite als auf der Kontralateralseite, während die anderen beiden Gruppen nur knapp über 10 mal so viel endomysiales Fett im Seitenvergleich zeigen.

Deutliche Unterschiede im Gesamtfettgehalt pro Gesichtsfeld zeigen sich nur in der Nandrolon-22W-Gruppe im Vergleich zur Nandrolon-6W-Gruppe und zur Kontrollgruppe, die beide einen höheren Fettgehalt aufweisen. Der Unterschied zwischen endo- und perimysialem Fettgehalt auf der Interventionsseite ist in der Kontroll- und Nandrolon-22W-Gruppe ähnlich, aber in der Nandrolon-6W-Gruppe stärker ausgeprägt (vgl. Abb. 43).

Wie bereits im Kaninchenmodell von Gerber et al. gezeigt [7], konnte diese Studie im Schafmodell bestätigen, dass eine Nandrolonbehandlung über 22 Wochen ab Schadensereignis die fettige Infiltration generell vermindern kann. Weiterführend konnte gezeigt werden, dass Nandrolonbehandlung ab Refixation einen relativ vermindernenden Effekt auf die endomysiale fettige Infiltration nimmt.

Es gibt einen Widerspruch zwischen den histologischen Daten und der Volumen- sowie Gewichtsbestimmung der ISP nach Euthanasie. Dabei muss beachtet werden, dass sich die histologischen Daten nur auf eine lokale Biopsiestelle beziehen (vgl. Abb. 10), während die Werte der Volumen- und Gewichtsbestimmung den gesamten Infraspinatusmuskel repräsentieren. Aus den histologischen Daten lässt sich ableiten, dass Nandrolon nur bei Behandlung ab Schadensereignis sowohl die Atrophie als auch die fettige Infiltration minimieren kann. Dieser protektive Effekt wird durch die MRT-Resultate über die Minimierung der Fiederungswinkelvergrößerung sowie Faserbündelverkürzung bestätigt, die im weitesten Sinne auch die Lokalisation der histologischen Proben repräsentieren. Dagegen zeigt sich in der Gewichts- und Volumenmessung, dass die ISP der Nandrolon-6W-Gruppe den Muskel mit der

geringsten Atrophie aufweist, während die Muskeln der Nandrolon-22W-Gruppe sogar noch atrophierter sind als die der Kontrollgruppe. Die Ursache für diesen Widerspruch ist ungeklärt. Die ursprüngliche Erwartung wäre gewesen, dass der Muskel mit der längsten Nandrolonbehandlung [88] bzw. dem geringsten Fett- und grössten Muskelfasergehalt das schwerste Gewicht hat. Die Relation zum Körpergewicht der Schafe brachte keine Erklärung dazu (vgl. Abb. 50). Der vorliegende Sachverhalt könnte mit Veränderungen der Fett-, Protein- oder Bindegewebeverteilung im ISP und ggf. deren unterschiedlichen spezifischen Gewichte (Fett 0.92 g/ml [89], Skelettmuskulatur 1.06 g/ml [90]) zusammenhängen. Da sich die Dichten der ISP im Gruppenvergleich allerdings nicht deutlich unterscheiden (vgl. Abb. 48) und keine Erklärung im Fett- und Bindegewebegehalt oder Faservolumen zu finden ist, müssen die Gewichtsabweichungen auf eine Zu- bzw. Abnahme von Gewebe an anderer Stelle im ISP zurückzuführen sein. Vertiefende Rückschlüsse bzgl. struktureller Veränderungen im gesamten Muskelverlauf könnte die Untersuchung weiterer Biopsiestellen zulassen. Aufgrund dieser Tatsache lassen sich auch die Abweichungen der Infraspinativolumen und -gewichte begründen. Interessanterweise zeigt sich in der Dichte wieder ein Phänomen, dass sich auch in vielen anderen Messparametern darstellt: Die über 22 Wochen mit Nandrolon behandelten Tiere zeigen zwischen Interventions- und Kontralateralseite die kleinsten Unterschiede und sind demnach im Seitenvergleich am balanciertesten.

Die Fiederungswinkel der MRT-Aufnahmen stellen sich analog zu der Studie von Gerber et al. im Seitenvergleich an allen Zeitpunkten auf der Interventionsseite vergrössert dar [14]. Der vergrösserte Fiederungswinkel ist bereits in Woche 0 im Ansatz erkennbar und resultiert aus der sofortigen Retraktion des Muskels nach Ablösung vom Knochen. Im weiteren Verlauf retrahiert der Muskel mehr, weshalb sich der Fiederungswinkel vergrössert und sich die Faserbündellängen verkürzen. Diese Studie bestätigt damit die geometrischen

Darstellungen von Meyer et al., die einen Zusammenhang zwischen Fiederungswinkelvergrößerung und Raumschaffung für Fettinfiltration zeigen [16]. Im Vergleich der Fiederungswinkelveränderung von Euthanasiezeitpunkt zu Woche 0 fällt auf, dass die deutlichsten Unterschiede in der Kontrollgruppe gefolgt von der Nandrolon-6W-Gruppe vorliegen und dass die Nandrolon-22W-Gruppe fast keinen Unterschied aufweist. Im Gruppenvergleich der Unterschiede zeigt sich, dass Nandrolon die Fiederungswinkelvergrößerung minimieren, nach 22 Wochen sogar verhindern kann. Allerdings muss berücksichtigt werden, dass die Verminderung der Fiederungswinkelvergrößerung durch Nandrolonanwendung zum Zeitpunkt des Schadensereignisses nur deswegen zustande kommt, weil der Fiederungswinkel auf der Interventionsseite bei Woche 0 abnormal hoch ist, wofür bisher keine schlüssige Erklärung vorliegt. Selbst nach Korrektur zweier Ausreisser (Tier 29.14 und 29.16) bleiben die Verhältnisse bestehen und die Unterschiede variieren nur minimal.

Vergleicht man die Fiederungswinkelveränderung zw. Woche 22 und Woche 0 so nehmen in der Kontrollgruppe die Fiederungswinkel mehr als 50 %, in der Nandrolon-6W-Gruppe nur knapp 40 % und in der Nandrolon-22W-Gruppe fast nicht zu. Da die Streuung über die vier Zeitpunkte auf der Kontralateralseite auch in der Kontrollgruppe relativ hoch ist, ist die angewandte Messmethode möglicherweise nicht sensitiv genug, um Argumente für detaillierte Schlussfolgerungen abzuleiten. Für zukünftige Studien könnte man beispielsweise ein höher auflösenderes MRT verwenden, die Messungen an mehr als nur zwei Stellen (lateral und medial) pro Seite durchführen oder von mehreren unabhängigen Beobachtern durchführen lassen. Des Weiteren könnte man auch in Betracht ziehen, die Fiederungswinkelmessungen der Fotoaufnahmen der längsgeschnittenen ISP zu messen und damit die Fiederwinkelmessungen aus dem MRT zu validieren. Allerdings spiegeln diese zum einen nur den Euthanasiezeitpunkt wieder und zum anderen verändert sich der Fiederungswinkel höchstwahrscheinlich direkt nachdem der Muskel von seinen Fixationspunkten

gelöst wird und nicht mehr unter Spannung steht. Die MRT-Resultate der Woche 22 können wohl als die repräsentativsten Ergebnisse gewertet werden, da hier der ISP an der Refixationsstelle aufgespannt war und eine lagerungs- respektive bewegungsbedingte Verschiebung der Ansatzsehnen nicht in Frage kommt. Davor lag der Sehnenstumpf frei in der Schulter.

Die Faserbündellängen zeigen im Seitenvergleich innerhalb der einzelnen Gruppen im Verlauf ähnliche Veränderungen wie in der Fiederungswinkelmessung und entsprechen den in der Literatur gefunden Erkenntnissen [14]. Allerdings ist der Fiederungswinkel auf der Interventionsseite grösser, während die Faserbündellängen auf der Interventionsseite kleiner als auf der Kontralateralseite sind. Dieser Zusammenhang ist logisch, da die Faserbündellängen exakt an der gleichen Stelle gemessen wurden wie die Fiederungswinkel und da der Infraspinatus im Schaf nicht unendlich viel Platz einnehmen kann, muss die Vergrößerung des Fiederungswinkels mit einer Verkürzung der Faserbündellängen einhergehen, wie dies auch schon von Meyer et al. dargestellt wurde [16].

In der Faserbündellängenveränderung über 22 Wochen ist der Unterschied in der Nandrolon-22W-Gruppe wesentlich kleiner als in den anderen Gruppen. Interessanterweise gibt es hier trotz der Ähnlichkeiten im Fiederungswinkel- und Faserbündellängenverlauf einen kleinen Unterschied im 22-Wochen-Vergleich in der Nandrolon-22W-Gruppe, während es bei den Fiederungswinkeln keinen Unterschied gab.

Für die Diskussion der Faserbündellängenmessungen gilt die bereits beschriebene Methodenkritik der Fiederungswinkelmessung gleichermassen.

Die ISP-Muskelretraktion ist in allen drei Gruppen nach 22 Wochen stärker als in Woche 0. Allerdings zeigt sich hier ein deutlicher Unterschied zwischen der Nandrolon-22W-Gruppe (mehr als 34 %) und der Nandrolon-6W- (ca. 17 %) und Kontrollgruppe (ca. 12 %). Meyer et al. konnte zeigen, dass die Kontraktionsamplitude und die Muskelstärke nach chronischer RM-Ruptur abnehmen

[45]. Unter Nandroloneinwirkung erhöht sich die Kraftamplitude [64, 68], weshalb sich vermutlich die ISP der Nandrolon-Gruppen verstärkt retrahieren. Da die Innervation noch intakt ist und der Muskel somit neuronal nach wie vor im Bewegungsablauf angesteuert wird, könnte dies eine Erklärung für die stärkere Retraktion bieten.

Da es trainingsabhängige Veränderungen in den Fasertypprofilen [59, 60] und im Nandroloneffekt geben kann [68] soll hier darauf hingewiesen werden, dass die Tiere nach Refixation unter bewegungsrestriktiven Haltungsbedingungen gehalten wurden, um eine komplikationsfreie Heilung der Refixation zu gewährleisten. Obwohl sie 3 Wochen nach Refixationsoperation aus dem Suspensionssystem abgehängt wurden, blieben sie dennoch zum Schutz der noch frischen Refixationsstelle in Einzelboxen. Dies ermöglicht den Schafen zwar eine gewisse natürliche und freie Bewegung, für die Muskulatur kann es damit aber zu keinem echten Trainingseffekt kommen, weil selbst der natürliche Weidegang eines Schafes nicht mit einem Krafttraining eines Bodybuilders vergleichbar ist. Für zukünftige Studien wäre es daher interessant, den Beobachtungszeitraum nach Refixation zu verlängern und evtl. ein entsprechendes Lauftraining mit der Herde auf der Weide zu etablieren. Die Schafe sind zwar drei Wochen nach Tenotomie zurück auf hügeligen Weiden im Fricktal gegangen, allerdings waren sie dann 8 Tage vor Refixation wieder in Kleingruppen im Stall. Insgesamt verbrachten sie also 7 Wochen vor Euthanasie im Stall, was möglicherweise einen zuvor aufgebauten hypertrophen Effekt durch Atrophie aufgrund verminderter Muskelnutzung verschleiern könnte.

Die qualitative Beurteilung der histologischen Schnitte bestätigt im Allgemeinen die Befunde der quantitativen Histologie. Die geringe Anzahl der abnormen Muskelfasern können kein Indiz für eine vorherrschende degenerative Veränderung des Muskelgewebes darstellen. Erwähnenswert bleibt, dass sich in mehr als 50 % der Gewebeschnitte auf der Interventionsseite entzündliche Zellen im Interstitium befinden, deren Herkunft wahrscheinlich zum Teil

auf die Operation selbst und auf die strukturellen Veränderungen zurückzuführen ist. Ob das Vorhandensein der Entzündungszellen einen Einfluss auf die Pharmakokinetik von Nandrolon am Muskel hat, könnte in zukünftigen Studien weiter untersucht werden. Des Weiteren liegen in mindestens einem Tier pro Gruppe intrazelluläre Parasiten im untersuchten Gesichtsfeld vor. Höchstwahrscheinlich handelt es sich hierbei um protozoäre Zysten nach einer Infektion mit *Sarcocystis* spp., die nur selten klinische Erkrankungen auslösen und in geringen Zahlen als Zufallsbefund gewertet werden dürfen. Aller Wahrscheinlichkeit nach haben sich die Parasiten bereits vor Ankauf in die Muskulatur eingenistet, wo sie normalerweise asymptomatisch, abgekapselt liegen bleiben und keine Probleme verursachen. Die angewandte antiparasitäre Behandlung kann lediglich das Infektionsrisiko senken, aber bereits eingenistete Zysten nicht entfernen. Laut Literatur fehlen Entzündungsreaktionen fast immer, da sich die Zysten intrazellulär befinden [63].

Nach Dubowitz et al. sind Innenkerne erst als auffälliges Indiz zu benennen, wenn mehr als 3 % der Muskelfasern Innenkerne vorweisen. In der vorliegenden Studie sind Innenkerne beobachtet worden. Allerdings war deren Auftreten derart selten, dass die Bestimmung qualitativ durchgeführt wurde, und vermutlich kein Indiz für Degenerations- oder Regenerationsvorgänge darstellen [59].

Aus ethischen Gründen wurde die Anzahl der Tiere pro Gruppe nicht ausgeweitet, weshalb bei manchen Werten nicht klar ist, ob das Signifikanzniveau nicht erreicht wurde, weil kein deutlicher Unterschied besteht oder weil die Stichprobenanzahl zu klein war. Eine experimentelle Studie im Grosstierversuchsmodell lässt sich vor allem bei einem so komplexen Versuchsaufbau kaum anders realisieren. So ist erwartungsgemäss auch in dieser Studie die Streuung der einzelnen Messwerte der Tiere relativ hoch. Allerdings finden schlussendlich bei präklinischen Studien meist eindeutige Ergebnisse zur Entwicklung neuer Therapieansätze im Menschen Verwendung und so ist davon auszuge-

hen, dass diese bereits in kleineren Populationen trotz hoher Variabilitäten zu erkennen sind.

5.3 Schlussfolgerung und Perspektiven

Trotz aller beschriebenen Probleme liegt in den Daten eine gewisse Konsistenz, die Schlussfolgerungen zulässt. Mit dieser Studie konnte nachgewiesen werden, dass Nandrolon auch in einer höher entwickelten Spezies protektive Effekte über die Verminderung von Muskelfaseratrophie, fettiger Infiltration, Fiederungswinkelvergrößerung sowie Faserbündellängenverkürzung zeigt. Damit bestätigt und ergänzt sie die von Gerber et al. angestellte Tierversuchsstudie im Kaninchenmodell [7]. Als weitere Schlussfolgerung konnte in Ergänzung zur Vorläuferstudie [8] gezeigt werden, dass die generalisierte Nandrolonapplikation im Schafmodell grundsätzlich eine Wirkung zeigt. Die Nandrolonapplikation ab dem Zeitpunkt der chirurgischen RepARATION kann histologisch ein physiologisches Fasertypverhältnis hervorrufen und zeigt einen mindernden Effekt auf die relative Fetteinlagerung ins Endomysium, während Nandrolon ab Schadensereignis einen mindernden Effekt auf die gesamte fettige Infiltration zeigt. Die Nandrolonanwendung bewirkt eine Verstärkung der Muskelretraktion in Abhängigkeit der Behandlungszeit.

Nandrolonbehandlung ab dem Zeitpunkt der chirurgischen RepARATION bewirkt eine deutliche Verminderung der Muskelatrophie, die allerdings mit den vorliegenden histologischen Daten nicht erklärt werden konnte und sogar teils im Widerspruch dazu steht. In einer weiterführenden Studie sollte daher eine Erklärung für diesen Sachverhalt sowie der verstärkten ISP-Gewichts- und Volumenabnahme der Nandrolon-22W-Gruppe angestrebt werden.

Schlussendlich legen die Resultate dieser Untersuchung nahe, dass Nandrolon zur Akutbehandlung von RM-Rupturen nach beispielsweise traumatischen Ereignissen therapeutisch eingesetzt werden könnte. Eine derartige Nandro-

lonbehandlung wird unter Berücksichtigung der eingangs erwähnten Nebenwirkungen allerdings nur bedingt Anwendung finden können.

Diese Studie kann die Effekte von Nandrolon auf die strukturellen Veränderungen der Muskulatur der Rotatorenmanschette nicht abschliessend klären, sodass Folgestudien angestellt werden müssen. Aufgrund der vorliegenden neuen Erkenntnisse könnte eine Nachfolgestudie Aufschluss bringen, welchen Effekt die generalisierte Nandrolonapplikation in Kombination mit einer kontinuierliche Muskelverlängerung [39] im Schafmodell für RM-Rupturen zeigen würde. Zur genaueren Erörterung der Fragen um eine Nandrolonresistenz und zur vertiefenden Untersuchung der Androgenrezeptoren könnte dabei auch eine Gruppe inkludiert werden, die bereits eine geraume Zeit vor Tenotomie wöchentliche Nandroloninjektionen erhält. Weiterführend könnten Untersuchungen über die Pharmakodynamik und -kinetik von Nandrolon angestellt sowie dessen ideale Dosierung entwickelt werden.

Die strukturellen Veränderungen im RM-Modell und die darauf wirkenden pharmakologischen Mechanismen durch Nandrolon sind sehr komplex und müssen vertieft untersucht werden. Im Kaninchenmodell wurde gezeigt, dass Nandrolon eine hemmende Wirkung auf Sehnenheilung hat [80]. Sollte Nandrolon in der Therapie von RM-Rupturen Anwendung finden muss daher eine differenzierte Abwägung von Wirkung und Nebenwirkung erfolgen, was auch eine exakte Dosierung voraussetzt. Auch wenn Nandrolon positive Effekte auf die strukturellen Muskelveränderungen hat, so muss am Ende bei einer chirurgischen RepARATION einer Sehnenruptur schliesslich auch noch eine Sehne heilen.

Da die Muskelregeneration stark von der Proteinverfügbarkeit im Organismus abhängt, könnte eine weiterführende Studie im Bereich der Nandrolonanwendung im RM-Modell des Schafes unter spezieller Berücksichtigung der Ernährungsphysiologie angestellt werden, was beim Wiederkäuer eine besondere Herausforderung darstellt.

Aufgrund der wiederkehrenden Probleme mit der Immunhistologie und der begrenzten Interpretationsmöglichkeiten sollte in einer Folgestudie deren Einsatz grundlegend überdacht oder zumindest auf eine Einzelfärbung umgestiegen werden, um die Determination von Hybridfasern zu gewährleisten. Abschliessend bestätigt diese Studie die gegenwärtige Forschungsmeinung, dass Nandrolon strukturelle Muskelveränderungen vermindern kann.

6 Literaturverzeichnis

1. Sher, J.S., et al., *Abnormal findings on magnetic resonance images of asymptomatic shoulders*. The Journal of Bone & Joint Surgery, 1995. 77(1): p. 10-15.
2. Gladstone, J.N., et al., *Fatty infiltration and atrophy of the rotator cuff do not improve after rotator cuff repair and correlate with poor functional outcome*. The American journal of sports medicine, 2007. 35(5): p. 719-728.
3. Gerber, C., B. Fuchs, and J. Hodler, *The results of repair of massive tears of the rotator cuff*. J Bone Joint Surg Am, 2000. 82(4): p. 505-15.
4. Thomazeau, H., et al., *Prediction of rotator cuff repair results by magnetic resonance imaging*. Clinical orthopaedics and related research, 1997. 344: p. 275-283.
5. Goutallier, D., et al., *[Impact of fatty degeneration of the supraspinatus and infraspinatus muscles on the prognosis of surgical repair of the rotator cuff]*. Revue de chirurgie orthopedique et reparatrice de l'appareil moteur, 1999. 85(7): p. 668-676.
6. van de Sande, M.A., et al., *Quantitative assessment of fatty degeneration in rotator cuff muscles determined with computed tomography*. Investigative radiology, 2005. 40(5): p. 313-319.
7. Gerber, C., et al., *Anabolic steroids reduce muscle damage caused by rotator cuff tendon release in an experimental study in rabbits*. J Bone Joint Surg Am, 2011. 93(23): p. 2189-95.
8. Wieser, K., et al., *Tendon response to pharmacomechanical stimulation of the chronically retracted rotator cuff in sheep*. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2014.
9. Kuzel, B.R., et al., *Fatty Infiltration and Rotator Cuff Atrophy*. Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons, 2013. 21(10): p. 613-623.
10. Gray, H., *Gray's Anatomy: With original illustrations by Henry Carter*. 2009: Arcturus Publishing.
11. Hertz, H., *Die Bedeutung des Limbus glenoidalis für die Stabilität des Schultergelenks*. 1984: Springer.
12. Terry, G.C. and T.M. Chopp, *Functional anatomy of the shoulder*. Journal of athletic training, 2000. 35(3): p. 248.
13. Nickel, R., A. Schummer, and E. Seiferle, *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere: Bewegungsapparat, Bd. 1, in Parey bei MVS, Stuttgart*. 2001. p. 102-108.
14. Gerber, C., et al., *Effect of tendon release and delayed repair on the structure of the muscles of the rotator cuff: an experimental study in sheep*. J Bone Joint Surg Am, 2004. 86-A(9): p. 1973-82.
15. Gerber, C., et al., *Experimental rotator cuff repair. A preliminary study*. J Bone Joint Surg Am, 1999. 81(9): p. 1281-90.

16. Meyer, D.C., et al., *A pathomechanical concept explains muscle loss and fatty muscular changes following surgical tendon release*. J Orthop Res, 2004. 22(5): p. 1004-7.
17. Meyer, D.C., et al., *Tendon retracts more than muscle in experimental chronic tears of the rotator cuff*. J Bone Joint Surg Br, 2006. 88(11): p. 1533-8.
18. Conze, P., *Kontinuierliche Dehnung einer Muskel-Sehneneinheit unter pharmakologischer Muskelstimulation mit Anabolika und IGF zur Behandlung struktureller Veränderungen nach Sehnenriss*. 2012, Universität Zürich.
19. Gerber, C., et al., *Rotator cuff muscles lose responsiveness to anabolic steroids after tendon tear and musculotendinous retraction: an experimental study in sheep*. Am J Sports Med, 2012. 40(11): p. 2454-61.
20. Schlemmer, I., *Experimentelle, schrittweise Reversion von fettiger Muskeldegeneration und Retraktion bei chronischer experimenteller Sehnenruptur beim Schaf*. 2007, Universität Zürich.
21. Zeichen, J., U. Bosch, and C. Krettek, *Rotatorenmanschette*. Trauma und Berufskrankheit, 2003. 5(1): p. s120-s125.
22. Südkamp, N., *Die Rotatorenmanschettenruptur*. Zentralblatt für Chirurgie, 2001. 126(03): p. 177-183.
23. Habermeyer, P., L. Lehmann, and S. Lichtenberg, *Rotatorenmanschetten-Ruptur*. Der Orthopäde, 2000. 29(3): p. 196-208.
24. Milgrom, C., et al., *Rotator-cuff changes in asymptomatic adults. The effect of age, hand dominance and gender*. J Bone Joint Surg Br, 1995. 77(2): p. 296-8.
25. Edward, G.M., et al., *Advances in the Understanding and Treatment of Rotator Cuff Disease*. European Musculoskeletal Review, 2009. 4(2): p. 78-81.
26. Costouros, J., A. von Campe, and C. Gerber. *Arthroscopic rotator cuff repair leads to less postoperative fatty infiltration than open repair*. in 20th Congress of the European Society for Surgery of the Shoulder and the Elbow (SECEC-ESSSE 2006), Athens. 2006.
27. Zingg, P., et al., *Clinical and structural outcomes of nonoperative management of massive rotator cuff tears*. The Journal of Bone & Joint Surgery, 2007. 89(9): p. 1928-1934.
28. Meyer, D.C., et al., *Quantitative analysis of muscle and tendon retraction in chronic rotator cuff tears*. Am J Sports Med, 2012. 40(3): p. 606-10.
29. Nakagaki, K., et al., *Fatty degeneration in the supraspinatus muscle after rotator cuff tear*. J Shoulder Elbow Surg, 1996. 5(3): p. 194-200.
30. Melis, B., et al., *Natural History of Fatty Infiltration and Atrophy of the Supraspinatus Muscle in Rotator Cuff Tears*. Clinical Orthopaedics and Related Research®, 2010. 468(6): p. 1498-1505.
31. Steinbacher, P., et al., *Effects of rotator cuff ruptures on the cellular and intracellular composition of the human supraspinatus muscle*. Tissue and Cell, 2010. 42(1): p. 37-41.

32. Goutallier, D., et al., *Fatty muscle degeneration in cuff ruptures. Pre- and postoperative evaluation by CT scan.* Clin Orthop Relat Res, 1994(304): p. 78-83.
33. Goutallier, D., et al., *Fatty infiltration of disrupted rotator cuff muscles.* Rev Rhum Engl Ed, 1995. 62(6): p. 415-22.
34. Barton, E.R., et al., *Rat supraspinatus muscle atrophy after tendon detachment.* Journal of orthopaedic research, 2005. 23(2): p. 259-265.
35. Gerber, C., et al., *Correlation of atrophy and fatty infiltration on strength and integrity of rotator cuff repairs: A study in thirteen patients.* Journal of Shoulder and Elbow Surgery, 2007. 16(6): p. 691-696.
36. Herbison, G., M. Jaweed, and J. Ditunno, *Muscle atrophy in rats following denervation, casting, inflammation, and tenotomy.* Archives of physical medicine and rehabilitation, 1979. 60(9): p. 401-404.
37. Jozsa, L., et al., *The effect of tenotomy and immobilisation on intramuscular connective tissue. A morphometric and microscopic study in rat calf muscles.* J Bone Joint Surg Br, 1990. 72(2): p. 293-7.
38. Coleman, S.H., et al., *Chronic Rotator Cuff Injury and Repair Model in Sheep.* Vol. 85. 2003. 2391-2402.
39. Gerber, C., et al., *Neer Award 2007: Reversion of structural muscle changes caused by chronic rotator cuff tears using continuous musculotendinous traction. An experimental study in sheep.* J Shoulder Elbow Surg, 2009. 18(2): p. 163-71.
40. Melis, B., C. Nemoz, and G. Walch, *Muscle fatty infiltration in rotator cuff tears: Descriptive analysis of 1688 cases.* Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research, 2009. 95(5): p. 319-324.
41. Schär, A., M.O. Schär, and M.A. Zumstein, *Einfluss chronisch-struktureller Veränderungen der Muskelsehneneinheit auf Indikation und Technik der Rotatorenmanschettenrekonstruktion.* Operative Orthopädie und Traumatologie, 2012. 24(6): p. 527-535.
42. Melis, B., B. Wall, and G. Walch, *Natural history of infraspinatus fatty infiltration in rotator cuff tears.* Journal of Shoulder and Elbow Surgery, 2010. 19(5): p. 757-763.
43. Björkenheim, J.-M., *Structure and function of the rabbit's supraspinatus muscle after resection of its tendon.* Acta Orthopaedica, 1989. 60(4): p. 461-463.
44. Fuchs, B., et al., *Fatty degeneration of the muscles of the rotator cuff: assessment by computed tomography versus magnetic resonance imaging.* J Shoulder Elbow Surg, 1999. 8(6): p. 599-605.
45. Meyer, D.C., et al., *Amplitude and strength of muscle contraction are reduced in experimental tears of the rotator cuff.* Am J Sports Med, 2011. 39(7): p. 1456-61.

46. Gazielly, D.F., P. Gleyze, and C. Montagnon, *Functional and anatomical results after rotator cuff repair*. Clinical orthopaedics and related research, 1994. 304: p. 43-53.
47. Harryman, D., et al., *Repairs of the rotator cuff. Correlation of functional results with*. J Bone Joint Surg Am, 1991. 73: p. 982-989.
48. Postel, J., et al., *Anatomical results of rotator cuff repairs: study of 57 cases controlled by arthrography*. J Shoulder Elbow Surg, 1994. 3(20): p. 320.
49. Schmidt, R.F., F. Lang, and M. Heckmann, *Physiologie des Menschen: mit Pathophysiologie*. Vol. 31. 2010: Springer Heidelberg Berlin.
50. Barrett, B., *The length and mode of termination of individual muscle fibres in the human sartorius and posterior femoral muscles*. Cells Tissues Organs, 1962. 48(3): p. 242-257.
51. Gordon, A., E. Homsher, and M. Regnier, *Regulation of contraction in striated muscle*. Physiological reviews, 2000. 80(2): p. 853-924.
52. Huxley, H. and J. Hanson, *Changes in the cross-striations of muscle during contraction and stretch and their structural interpretation*. Nature, 1954. 173(4412): p. 973-976.
53. Huxley, A.F. and R. Niedergerke, *Structural changes in muscle during contraction*. Nature, 1954. 173(4412): p. 971-973.
54. Farah, C. and F. Reinach, *The troponin complex and regulation of muscle contraction*. The FASEB Journal, 1995. 9(9): p. 755-767.
55. Baker, J.H. and E.C. Hall-Craggs, *Changes in length of sarcomeres following tenotomy of the rat soleus muscle*. Anat Rec, 1978. 192(1): p. 55-8.
56. Burke, R., et al., *Mammalian motor units: physiological-histochemical correlation in three types in cat gastrocnemius*. Science, 1971. 174(4010): p. 709-712.
57. Silverthorn, D.U. and W.-M. Weber, *Physiologie*. 2009: Pearson Deutschland GmbH.
58. Ciciliot, S., et al., *Muscle type and fiber type specificity in muscle wasting*. The international journal of biochemistry & cell biology, 2013. 45(10): p. 2191-2199.
59. Dubowitz, V., C.A. Sewry, and A. Oldfors, *Muscle Biopsy: A Practical Approach, Expert Consult*. 2013, Elsevier Health Sciences. p. 55-94.
60. Staron, R.S., et al., *Fiber type composition of the vastus lateralis muscle of young men and women*. Journal of Histochemistry & Cytochemistry, 2000. 48(5): p. 623-629.
61. Mendell, J. and W. Engel, *The fine structure of type II muscle fiber atrophy*. Neurology, 1971. 21(4): p. 358-358.
62. Larsson, L., et al., *Effects of age on physiological, immunohistochemical and biochemical properties of fast-twitch single motor units in the rat*. The Journal of physiology, 1991. 443(1): p. 257-275.

63. McGavin, D.M. and J.F. Zachary, *Pathologie der Haustiere: allgemeine, spezielle und funktionelle Veterinärpathologie*. 2009: Elsevier, Urban&FischerVerlag.
64. Bhasin, S., et al., *The effects of supraphysiologic doses of testosterone on muscle size and strength in normal men*. N Engl J Med, 1996. 335(1): p. 1-7.
65. Sinha-Hikim, I., et al., *Effects of testosterone supplementation on skeletal muscle fiber hypertrophy and satellite cells in community-dwelling older men*. J Clin Endocrinol Metab, 2006. 91(8): p. 3024-33.
66. Frisoli, A., et al., *The effect of nandrolone decanoate on bone mineral density, muscle mass, and hemoglobin levels in elderly women with osteoporosis: a double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial*. The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences, 2005. 60(5): p. 648-653.
67. Hamdy, R.C., et al., *Nandrolone decanoate for men with osteoporosis*. American journal of therapeutics, 1998. 5(2): p. 89-96.
68. Evans, N.A., *Current Concepts in Anabolic-Androgenic Steroids*. The American Journal of Sports Medicine, 2004. 32(2): p. 534-542.
69. Fritzsche, D., Krakor, R., Asmussen, G., Lange, S., Kaufmann, A., Zapf, P., *Effect of an anabolic steroid (Metenolon) on contractile performance of the chronically stimulated latissimus dorsi in sheep*. European Journal of Cardio-Thoracic Surgery, 1994. 8(4): p. 214-219.
70. Turner, A.S., *Experiences with sheep as an animal model for shoulder surgery: Strengths and shortcomings*. Journal of Shoulder and Elbow Surgery, 2007. 16(5, Supplement): p. S158-S163.
71. Gerber, C., et al., *Mechanical strength of repairs of the rotator cuff*. J Bone Joint Surg Br, 1994. 76(3): p. 371-80.
72. Sonnabend, D. and A. Young, *Comparative anatomy of the rotator cuff*. Journal of Bone & Joint Surgery, British Volume, 2009. 91(12): p. 1632-1637.
73. Lewis, C.W., et al., *Comparison of tunnel suture and suture anchor methods as a function of time in a sheep model*. Biomed Sci Instrum, 1999. 35: p. 403-8.
74. Wieser, K., et al., *Anabolic Steroids Reduce Muscle Degeneration Associated with Rotator Cuff Tendon Release*. American Journal of Sports Medicine, submitted.
75. Rubino, L.J., et al., *Fatty infiltration of the torn rotator cuff worsens over time in a rabbit model*. Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery, 2007. 23(7): p. 717-722.
76. Peinado, B., et al., *Histochemical skeletal muscle fibre types in the sheep*. Anat Histol Embryol, 2004. 33(4): p. 236-43.
77. Brooke, M.H. and K.K. Kaiser, *Muscle fiber types: how many and what kind?* Archives of neurology, 1970. 23(4): p. 369-379.

78. Loughna, P., et al., *Disuse and passive stretch cause rapid alterations in expression of developmental and adult contractile protein genes in skeletal muscle*. Development, 1990. 109(1): p. 217-223.
79. Suzuki, A., *Differences in distribution of myofiber types between the supraspinatus and infraspinatus muscles of sheep*. Anat Rec, 1995. 242(4): p. 483-90.
80. Papaspiliopoulos, A., et al., *The effect of local use of nandrolone decanoate on rotator cuff repair in rabbits*. J Invest Surg, 2010. 23(4): p. 204-7.
81. Grimby, G., et al., *Muscle fiber composition in patients with traumatic cord lesion*. Scandinavian journal of rehabilitation medicine, 1975. 8(1): p. 37-42.
82. Ohira, Y., et al., *Rat soleus muscle fiber responses to 14 days of spaceflight and hindlimb suspension*. Journal of Applied Physiology, 1992. 73(2): p. S51-S57.
83. Li, J.B. and A.L. Goldberg, *Effects of food deprivation on protein synthesis and degradation in rat skeletal muscles*. Am J Physiol, 1976. 231(2): p. 441-448.
84. Goldberg, A. and H. Goodman, *Relationship between cortisone and muscle work in determining muscle size*. The Journal of physiology, 1969. 200(3): p. 667-675.
85. Tiao, G., et al., *Intracellular regulation of protein degradation during sepsis is different in fast-and slow-twitch muscle*. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 1997. 272(3): p. R849-R856.
86. Peter, J.B., et al., *Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits*. Biochemistry, 1972. 11(14): p. 2627-2633.
87. Bisschop, A., et al., *Intermittent inspiratory muscle training induces fiber hypertrophy in rat diaphragm*. American journal of respiratory and critical care medicine, 1997. 155(5): p. 1583-1589.
88. Lee, W.J., et al., *Overload-induced androgen receptor expression in the aged rat hindlimb receiving nandrolone decanoate*. Journal of Applied Physiology, 2003. 94(3): p. 1153-1161.
89. Farvid, M.S., et al., *Association of adiponectin and resistin with adipose tissue compartments, insulin resistance and dyslipidaemia*. Diabetes, Obesity and Metabolism, 2005. 7(4): p. 406-413.
90. Urbanek, M.G., et al., *Specific Force Deficit in Skeletal Muscles of Old Rats Is Partially Explained by the Existence of Denervated Muscle Fibers*. The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences, 2001. 56(5): p. B191-B197.

7 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
A. demin.	entmineralisiertes Wasser
Bdgwb.	Bindegewebe
evtl.	eventuell
FD	Faserdurchmesser
Fendo	endomysiales Fett
FL	Faserbündellänge
Fperi	perimysiales Fett
Ftotal	Summe aus endo- und perimysialen Fett
FW	Fiederungswinkel
Hntgrd.	Hintergrund
Hz	Hertz
IHC	Immunhistochemie
i.m.	intramuskulär
ISP	M. infraspinatus
i.v.	intravenös
K	Kontralateralseite
KGW	Körpergewicht
MA	Muskelabstand
Nr.	Nummer
n.v.	nicht verfügbar
OP	Interventionsseite
OR	Ölrot
p.o.	per os
px	Bildpunkte (engl. Pixel)
RM	Rotatorenmanschette
ROI	Bereich von Interesse (engl. „region of interest“)
s.c.	subkutan

SEM	Standardfehler des Mittelwerts
sog.	sogenannt
Tab.	Tabelle
t0, t6, t16, t22	Zeitpunkte: Woche 0, Woche 6, Woche 16, Woche 22
T	Kontrollgruppe (kein Nandrolon)
TN6W	Nandrolon-6W-Gruppe (Nandrolon ab Sehnenreparation)
TN22W	Nandrolon-22W-Gruppe (Nandrolon ab Tenotomie)

8 Anhang

8.1 Tabellen

Tab. 7: Zusätzliche Carprofengaben

Tier Nr.	Gruppe	Zusätzliche Carprofengaben (Tage) (Rimadyl®, 4 mg/kg, Pfizer AG, Zürich, Schweiz)
29.03	T	1
29.10	TN6W	2
29.11	TN6W	4
29.12	TN6W	4
29.13	TN22W	4
29.14	TN22W	4
29.15	TN22W	4
29.16	TN22W	4
29.17	TN22W	4
29.18	TN22W	4

Tab. 8: Protokoll für Standardentwässerung über Nacht im Gewebeeinfiltrationsautomaten (Leica Histoprocessor ASP200S, Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland)

Routine Overnight					
Reagent	Duration	Temp	P/V	Drain	Delay
Formalin	1:30		P/V	140	
Ethanol 70%	0:45		P/V	120	🕒
Ethanol 90%	0:45		P/V	120	
Ethanol Absolute	0:45		P/V	120	
Ethanol Absolute	1:00		P/V	120	
Ethanol Absolute	1:00		P/V	120	
Ethanol Absolute	1:30		P/V	140	
Xylene	1:00		P/V	120	
Xylene	1:00		P/V	120	
Xylene	1:30		P/V	140	
Histowax	1:00	62	P/V	140	
Histowax	1:00	62	P/V	140	
Histowax	1:30	62	P/V	140	

Tab. 9: Ölrot/Hämatoxylin Färbeprotokoll

Oil red O Stock Lösung	375mg Oil red O (Art. Nr. O0625-25G*)
	100ml 2-Propanol (Art. Nr. 1.09634.1000**)
Oil red Working Lösung	30ml Oil red O Stock Lösung
	20ml A. demin.
Mayer's Hematoxylin	
Lösung 1	50g Aluminium-Kaliumsulfat-Dodecahydrat
	3g Hämatoxylin (Art. Nr. H3136-25G*)
	500ml A. demin.
Lösung 2	50g Chloralhydrat (Art. Nr. 23100-250G*)
	500ml A. demin.
hinzugeben	0,2g Natriumiodat (Art. Nr. 71702-25G*)
	1g Zitronensäuremonohydrat (Art. Nr. 27487*)
Lösung 1 + Lösung 2 mischen und in dunkle Flasche überführen	
Arbeitsschritte	Einwirkzeit (Min.)
1. Spülen A. demin.	
2. Spülen 50 % Ethanol	
3. Oil Red O Working Lösung	20
4. Spülen 50 % Ethanol	
5. Spülen A. demin.	
6. Mayer's Hematoxylin	3
7. Leitungswasser	3x 2
8. Deckgläser mit Aquatex***	

*Sigma Aldrich Chemie GmbH, Buchs, Schweiz; **VWR International / Merck Chemicals, Dietikon, Schweiz;

***Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland

Tab. 10: Programmcode für Macro (ImageJ) zum Faserzählen (Typ I-Fasern)

```
requires("1.380");
dir = getDirectory("Choose Directory");
dir2 = getDirectory("Choose Output Folder");
list = getFileList(dir);
setBatchMode(true);
for (i=0; i<list.length; i++) {
    showProgress(i, list.length);
    open(dir+list[i]);
    setThreshold(0, 150);
    run("Analyze Particles...", "size=0-infinity summarize");
    close;
}
selectWindow("Summary");
saveAs("Results", dir2+"SummaryTypI.csv");
```

Tab. 11: Programmcode für Macro (ImageJ) zum Faserzählen (Typ II-Fasern)

```
requires("1.380");
dir = getDirectory("Choose Directory");
dir2 = getDirectory("Choose Output Folder");
list = getFileList(dir);
setBatchMode(true);
for (i=0; i<list.length; i++) {
    showProgress(i, list.length);
    open(dir+list[i]);
    setThreshold(174, 249);
    run("Analyze Particles...", "size=0-infinity summarize");
    close;
}
selectWindow("Summary");
saveAs("Results", dir2+"SummaryTypII.csv");
```

Tab. 12: Gruppenzuordnung und Körpergewicht

Tier Nr.	Gruppe	Körpergewicht (kg)		
		Woche 0	Woche 16	Woche 22
29.01	T	43,2	56,0	59,0
29.02	T	47,7	60,0	63,0
29.03	T	45,5	55,8	59,0
29.04	T	52,6	59,0	66,0
29.05	T	38,3	48,0	52,2
29.06	T	44,2	54,4	56,5
29.07	TN6W	51,8	62,0	65,0
29.08	TN6W	45,1	52,0	56,0
29.09	TN6W	43,2	50,0	59,0
29.10	TN6W	51,2	61,0	70,0
29.11	TN6W	47,0	58,0	58,0
29.12	TN6W	51,8	64,0	62,0
29.13	TN22W	48,8	58,5	58,0
29.14	TN22W	46,0	53,5	56,0
29.15	TN22W	46,0	62,0	61,0
29.16	TN22W	46,5	59,0	58,0
29.17	TN22W	50,0	61,5	59,0
29.18	TN22W	43,0	52,0	59,0

Tab. 13: Gewicht und Volumen der ISP nach chirurgischer Entnahme, Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

Tier Nr.	Gruppe	Gewicht (g)		Volumen (ml)	
		OP	K	OP	K
29.01	T	167	239	160	221
29.02	T	165	228	157	215
29.03	T	173	236	160	217
29.04	T	134	216	131	200
29.05	T	131	184	125	176
29.06	T	144	206	140	195
29.07	TN6W	219	260	205	248
29.08	TN6W	176	207	160	190
29.09	TN6W	140	233	138	220
29.10	TN6W	177	227	168	220
29.11	TN6W	167	200	160	190
29.12	TN6W	175	214	150	201
29.13	TN22W	137	226	140	210
29.14	TN22W	141	168	130	182
29.15	TN22W	140	215	130	200
29.16	TN22W	139	205	130	190
29.17	TN22W	125	238	117	221
29.18	TN22W	132	178	123	166

Tab. 14: Faserdurchmessermittelwert ROI-1 + SEM (μm), Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

Tier Nr.	Gruppe	OP		K	
		Typ I	Typ II	Typ I	Typ II
29.01	T	44,6 \pm 2	51,6 \pm 1,86	50,9 \pm 1,6	51,25 \pm 1,62
29.02	T	38,95 \pm 1,74	60,5 \pm 1,78	54 \pm 2,27	51,5 \pm 1,65
29.03	T	39,05 \pm 1,38	39,85 \pm 1,34	62,6 \pm 2,26	55,05 \pm 2,16
29.04	T	22,1 \pm 1,59	30,4 \pm 1,36	61,6 \pm 2,65	53,1 \pm 2,33
29.05	T	48,2 \pm 2,05	46,4 \pm 2,2	48,45 \pm 2,23	42,25 \pm 1,77
29.06	T	53,35 \pm 2,78	56,35 \pm 2,35	61,7 \pm 1,53	59,95 \pm 2,21
29.07	TN6W	52,4 \pm 2,14	53,15 \pm 2,61	47,35 \pm 1,3	46,7 \pm 1,74
29.08	TN6W	48,25 \pm 1,32	48,55 \pm 2,22	52,55 \pm 1,76	51,65 \pm 1,49
29.09	TN6W	58,35 \pm 3,2	48,25 \pm 2,98	53,8 \pm 2,32	43,5 \pm 1,54
29.10	TN6W	38 \pm 2,58	37,25 \pm 2,36	55,85 \pm 2,13	50,95 \pm 1,06
29.11	TN6W	49,25 \pm 1,41	39,85 \pm 2,05	50,65 \pm 2,52	47,4 \pm 2,2
29.12	TN6W	73,15 \pm 2,3	59,87 \pm 3,11	68,2 \pm 3,29	59 \pm 2,27
29.13	TN22W	50,35 \pm 2,29	57,4 \pm 3,02	67,61 \pm 2,31	48,65 \pm 1,57
29.14	TN22W	49,7 \pm 2,61	56,05 \pm 1,95	69,8 \pm 3,19	51,8 \pm 1,8
29.15	TN22W	48,4 \pm 3,09	51,3 \pm 2,34	56,15 \pm 3,1	43,4 \pm 2,83
29.16	TN22W	64,4 \pm 3,52	49,15 \pm 2,41	55,25 \pm 3,84	57,45 \pm 1,99
29.17	TN22W	45,1 \pm 3,3	57,35 \pm 2,09	49,95 \pm 1,59	35,9 \pm 1,79
29.18	TN22W	53,4 \pm 3,05	52,5 \pm 2,28	62,7 \pm 2,08	50,85 \pm 2,26

Tab. 15: Faserdurchmessermittelwert ROI-2 + SEM (μm), Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

Tier Nr.	Gruppe	OP		K	
		Typ I	Typ II	Typ I	Typ II
29.01	T	52,35 \pm 2,22	55,75 \pm 2,27	54,15 \pm 2,62	47,4 \pm 1,83
29.02	T	46,05 \pm 2,22	60,65 \pm 2,74	51,8 \pm 1,83	55,4 \pm 2,32
29.03	T	46,75 \pm 2,07	45,4 \pm 1,8	55,75 \pm 2,33	49,55 \pm 2,18
29.04	T	33,25 \pm 1,94	24,65 \pm 1,37	74 \pm 2,43	50,1 \pm 2,07
29.05	T	52,2 \pm 2,08	45,35 \pm 1,99	54,6 \pm 2,79	42,85 \pm 1,82
29.06	T	56,5 \pm 3,01	52,55 \pm 2,15	64,25 \pm 2,43	54 \pm 2,65
29.07	TN6W	55,35 \pm 1,76	59,5 \pm 2,37	54,75 \pm 1,43	51,35 \pm 1,89
29.08	TN6W	55,8 \pm 2,02	58,05 \pm 2,32	55,4 \pm 1,74	50,75 \pm 1,99
29.09	TN6W	58,3 \pm 3,48	29,25 \pm 2,38	53 \pm 2,11	43,4 \pm 1,64
29.10	TN6W	30,45 \pm 1,17	30,45 \pm 2,46	57,9 \pm 1,68	59 \pm 2,19
29.11	TN6W	50,35 \pm 1,82	39,5 \pm 2,27	51,94 \pm 2,42	55,25 \pm 1,63
29.12	TN6W	55,4 \pm 3,07	53,1 \pm 3,22	72,4 \pm 2,91	54,35 \pm 2,58
29.13	TN22W	51,3 \pm 2,68	58,65 \pm 2,55	63,55 \pm 3,55	45,25 \pm 2,34
29.14	TN22W	48,25 \pm 1,96	49,55 \pm 3,79	60,6 \pm 2,78	44,95 \pm 1,68
29.15	TN22W	49 \pm 1,86	45 \pm 1,36	53,2 \pm 2,28	45 \pm 1,69
29.16	TN22W	62,05 \pm 1,97	52,8 \pm 1,66	65,7 \pm 2,83	53,25 \pm 2,14
29.17	TN22W	38,15 \pm 1,26	39,05 \pm 2,13	56,55 \pm 1,32	41,45 \pm 1,47
29.18	TN22W	54,2 \pm 2,63	53,15 \pm 3,31	55,3 \pm 3,14	51,85 \pm 1,86

Tab. 16: Faserdurchmesser Mittelwert ROI-3 + SEM (μm), Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

Tier Nr.	Gruppe	OP		K	
		Typ I	Typ II	Typ I	Typ II
29.01	T	54,85 \pm 1,11	57,6 \pm 2,53	50,25 \pm 2,46	52,45 \pm 1,75
29.02	T	48,5 \pm 1,81	59,5 \pm 2,83	57,3 \pm 2,38	51,95 \pm 1,96
29.03	T	50,1 \pm 1,62	50,8 \pm 1,63	67,95 \pm 2,33	48,6 \pm 2,66
29.04	T	59,35 \pm 4,41	65,4 \pm 4,15	80,39 \pm 3,64	68,5 \pm 2,47
29.05	T	53,6 \pm 2,06	48,15 \pm 2,41	49,65 \pm 1,81	47,2 \pm 1,94
29.06	T	59,8 \pm 2,43	58,75 \pm 2,22	57,7 \pm 1,99	45,45 \pm 2
29.07	TN6W	55,8 \pm 2,45	59,55 \pm 2,58	57,5 \pm 2,18	54,4 \pm 2,22
29.08	TN6W	48,55 \pm 1,87	51,85 \pm 2,91	60,75 \pm 2,76	50,45 \pm 2,17
29.09	TN6W	55,9 \pm 3,35	36,11 \pm 2,22	55,95 \pm 2,35	45,05 \pm 1,44
29.10	TN6W	29,6 \pm 1,83	27,4 \pm 2,67	59,1 \pm 2,17	55,05 \pm 1,9
29.11	TN6W	42,85 \pm 1,84	34,95 \pm 1,93	62,25 \pm 2,28	50,8 \pm 2,86
29.12	TN6W	68,8 \pm 2,94	47,79 \pm 2,4	67,9 \pm 2,89	58,05 \pm 2,43
29.13	TN22W	43,15 \pm 2,09	66,45 \pm 3,21	58,95 \pm 3,05	45 \pm 2,44
29.14	TN22W	48,55 \pm 3,57	57,55 \pm 2,42	75,6 \pm 3,02	48,35 \pm 1,97
29.15	TN22W	49 \pm 1,86	45 \pm 1,36	61,1 \pm 2,35	51,25 \pm 1,7
29.16	TN22W	36,45 \pm 2,86	43,15 \pm 1,78	54,85 \pm 2,71	49,5 \pm 2,26
29.17	TN22W	43,25 \pm 2,2	50,3 \pm 2,46	45,7 \pm 1,87	35,1 \pm 1,18
29.18	TN22W	53,95 \pm 2,65	61,4 \pm 2,12	52,7 \pm 3,71	39,35 \pm 1,86

Tab. 17: Faserdurchmesser, Mittelwerte (aller 3 ROI) + SEM (μm), Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

Tier Nr.	Gruppe	OP		K	
		Typ I	Typ II	Typ I	Typ II
29.01	T	50,6 \pm 1,19	54,98 \pm 1,31	51,77 \pm 1,31	50,37 \pm 1,02
29.02	T	44,5 \pm 1,22	60,22 \pm 1,42	54,37 \pm 1,27	52,95 \pm 1,15
29.03	T	45,3 \pm 1,14	45,35 \pm 1,08	62,1 \pm 1,46	51,07 \pm 1,38
29.04	T	38,23 \pm 2,63	40,15 \pm 2,78	71,71 \pm 1,94	57,23 \pm 1,67
29.05	T	51,33 \pm 1,21	46,63 \pm 1,26	50,9 \pm 1,36	44,1 \pm 1,09
29.06	T	56,55 \pm 1,6	55,88 \pm 1,32	61,22 \pm 1,2	53,13 \pm 1,52
29.07	TN6W	54,47 \pm 1,25	57,4 \pm 1,48	53,2 \pm 1,11	50,82 \pm 1,19
29.08	TN6W	50,87 \pm 1,1	52,73 \pm 1,51	56,23 \pm 1,29	50,95 \pm 1,08
29.09	TN6W	57,52 \pm 1,91	36,28 \pm 1,75	54,25 \pm 1,29	43,98 \pm 0,88
29.10	TN6W	32,68 \pm 1,21	31,7 \pm 1,52	57,62 \pm 1,15	55 \pm 1,1
29.11	TN6W	47,48 \pm 1,06	38,1 \pm 1,22	55,11 \pm 1,54	51,15 \pm 1,36
29.12	TN6W	65,78 \pm 1,87	53,11 \pm 1,79	69,5 \pm 1,74	57,13 \pm 1,4
29.13	TN22W	48,27 \pm 1,42	60,83 \pm 1,75	63,22 \pm 1,8	46,3 \pm 1,24
29.14	TN22W	48,83 \pm 1,59	54,38 \pm 1,67	68,67 \pm 1,88	48,37 \pm 1,09
29.15	TN22W	48,8 \pm 1,33	47,1 \pm 1,07	56,82 \pm 1,54	46,55 \pm 1,29
29.16	TN22W	54,3 \pm 2,31	48,37 \pm 1,23	58,6 \pm 1,91	53,4 \pm 1,28
29.17	TN22W	42,17 \pm 1,42	48,9 \pm 1,6	50,73 \pm 1,08	37,48 \pm 0,93
29.18	TN22W	53,85 \pm 1,58	55,68 \pm 1,58	56,9 \pm 1,82	47,35 \pm 1,36

Tab. 18: Faserdurchmesser: Summe der gemessenen Fasern in 3 ROI, Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

Tier Nr.	Gruppe	OP		K	
		Typ I	Typ II	Typ I	Typ II
29.01	T	60	60	60	60
29.02	T	60	60	60	60
29.03	T	60	60	60	60
29.04	T	60	60	58	60
29.05	T	60	60	60	60
29.06	T	60	60	60	60
29.07	TN6W	57	60	60	60
29.08	TN6W	60	59	60	60
29.09	TN6W	60	50	60	60
29.10	TN6W	60	60	60	60
29.11	TN6W	60	60	57	60
29.12	TN6W	60	54	60	60
29.13	TN22W	60	60	58	60
29.14	TN22W	60	60	60	60
29.15	TN22W	60	60	60	60
29.16	TN22W	60	60	60	60
29.17	TN22W	60	60	60	60
29.18	TN22W	60	60	60	60

Tab. 19: IHC: Histomorphometrieresultate ROI-1 (Pixelanzahl), Interventionsseite, Typ I- und Typ II-Fasern (Typ I, Typ II), endomysiales und perimysiales Fett (Fendo, Fperi), Bindegewebe (Bdgwb)

Tier Nr.	Gruppe	Typ I	Typ II	Fendo	Fperi	Bdgwb	Artefakt
29.01	T	834493	1193333	236477	81728	679398	210971
29.02	T	572144	1211197	123396	451903	654323	223437
29.03	T	976560	1662586	101936	74142	272544	148632
29.04	T	123906	429437	500826	1226198	710786	245247
29.05	T	1409082	1045771	47729	475288	234184	24346
29.06	T	916571	1280004	197955	278113	536187	27570
29.07	TN6W	1057930	1637000	83971	0	231547	225952
29.08	TN6W	1973324	844589	75703	6409	167293	169082
29.09	TN6W	1043313	258390	178315	502232	1188067	66083
29.10	TN6W	795212	563747	355372	459551	912542	149976
29.11	TN6W	1324376	1429918	39462	124904	232050	85690
29.12	TN6W	1374161	613863	185900	275321	624368	162787
29.13	TN22W	1292721	1230545	22361	52367	578457	59949
29.14	TN22W	851156	1970592	3446	22021	351852	37333
29.15	TN22W	1213790	1237779	13297	106575	616302	48657
29.16	TN22W	1240463	1104066	47044	194656	411753	238418
29.17	TN22W	723179	957656	15127	278512	1250475	11451
29.18	TN22W	1012605	1596578	12263	62376	451241	101337

Tab. 20: IHC: Histomorphometriresultate ROI-2 (Pixelanzahl), Interventionsseite, Typ I- und Typ II-Fasern (Typ I, Typ II), endomysiales und perimysiales Fett (Fendo, Fperi), Bindegewebe (Bdgbw)

Tier Nr.	Gruppe	Typ I	Typ II	Fendo	Fperi	Bdgbw	Artefakt
29.01	T	864284	1485558	169057	124474	451160	141867
29.02	T	883546	1188581	38621	489625	532742	103285
29.03	T	809579	1774308	36366	0	250041	366106
29.04	T	589023	282770	645907	813488	894107	11105
29.05	T	1037202	678083	197832	526759	468410	328114
29.06	T	781393	1176667	61313	227272	701174	288581
29.07	TN6W	742463	1641036	45998	272081	362716	172106
29.08	TN6W	1711967	848045	72091	298699	209107	96491
29.09	TN6W	1008787	317080	0	590853	1271021	48659
29.10	TN6W	611448	564563	50748	554180	1332841	122620
29.11	TN6W	1489839	1344915	97509	132752	159982	11403
29.12	TN6W	1106362	984076	172791	300586	571966	100619
29.13	TN22W	1301444	1231304	79701	29133	533042	61776
29.14	TN22W	942986	1540067	24189	18508	408943	301707
29.15	TN22W	1137159	1406760	0	91838	481318	119325
29.16	TN22W	1239078	1475828	53458	10834	216845	240357
29.17	TN22W	599603	588265	33470	494415	1496252	24395
29.18	TN22W	1588208	1279492	0	62791	294321	11588

Tab. 21: IHC: Histomorphometriresultate ROI-3 (Pixelanzahl), Interventionsseite, Typ I- und Typ II-Fasern (Typ I, Typ II), endomysiales und perimysiales Fett (Fendo, Fperi), Bindegewebe (Bdgbw)

Tier Nr.	Gruppe	Typ I	Typ II	Fendo	Fperi	Bdgbw	Artefakt
29.01	T	931230	1378096	160173	239152	459005	68744
29.02	T	1009204	1238926	47891	308011	458628	173740
29.03	T	973592	1821647	31061	59809	152261	198030
29.04	T	890540	915187	176317	653002	589966	11388
29.05	T	1319403	809166	60290	54068	345409	648064
29.06	T	976348	1122118	110881	204928	779080	43045
29.07	TN6W	985630	1767404	127683	0	233523	122160
29.08	TN6W	1558282	1090660	57857	119976	287640	121985
29.09	TN6W	841906	268411	220477	1335008	559474	11124
29.10	TN6W	559866	535422	89688	622998	1224175	204251
29.11	TN6W	1290259	1225244	59283	160739	257137	243738
29.12	TN6W	1256915	490872	112751	447502	716820	211540
29.13	TN22W	978358	1688237	76019	64486	405415	23885
29.14	TN22W	1287096	1475070	42684	0	387457	44093
29.15	TN22W	1235952	1524035	39311	75129	350561	11412
29.16	TN22W	880333	1525713	55199	179259	461282	134614
29.17	TN22W	538501	1058859	29404	300539	1231915	77182
29.18	TN22W	1282722	1569447	53543	0	306851	23837

Tab. 22: IHC: Histomorphometrieresultate (%), Mittelwert (aller 3 ROI) + SEM, Interventionsseite, Typ I- und Typ II-Fasern (Typ I, Typ II), endomysiales und perimysiales Fett (Fendo, Fperi), Bindegewebe (Bdgwb)

Tier Nr.	Gruppe	Typ I	Typ II	Fendo	Fperi	Bdgwb
29.01	T	28,3 ± 0,56	43,65 ± 2,47	6,11 ± 0,86	4,76 ± 1,45	17,18 ± 2,64
29.02	T	26,71 ± 4,1	39,53 ± 0,8	2,3 ± 0,9	13,56 ± 1,76	17,9 ± 2
29.03	T	30,63 ± 1,22	58,54 ± 2,41	1,86 ± 0,72	1,46 ± 0,74	7,52 ± 1,25
29.04	T	16,67 ± 6,82	17,17 ± 5,83	14,08 ± 4,41	28,82 ± 6,25	23,26 ± 2,73
29.05	T	43,5 ± 4,42	29,05 ± 2,89	3,54 ± 1,65	11,67 ± 4,88	12,25 ± 2,6
29.06	T	28,55 ± 1,17	38,32 ± 1,59	3,91 ± 1,2	7,6 ± 0,65	21,63 ± 2,47
29.07	TN6W	30,34 ± 3,22	54,89 ± 0,96	2,8 ± 0,75	2,96 ± 2,96	9,01 ± 1,42
29.08	TN6W	56,3 ± 4,22	29,85 ± 2,59	2,21 ± 0,18	4,52 ± 2,71	7,12 ± 1,12
29.09	TN6W	30,22 ± 2,09	8,81 ± 0,57	4,15 ± 2,11	25,26 ± 8,11	31,56 ± 7,14
29.10	TN6W	21,29 ± 2,26	18,02 ± 0,18	5,37 ± 3,1	17,74 ± 1,63	37,58 ± 4,07
29.11	TN6W	43,78 ± 1,25	42,68 ± 1,37	2,09 ± 0,51	4,48 ± 0,45	6,97 ± 1,07
29.12	TN6W	40,51 ± 2,77	22,53 ± 4,56	5,1 ± 0,7	11,11 ± 1,85	20,75 ± 1,59
29.13	TN22W	37,38 ± 3,46	43,36 ± 4,6	1,86 ± 0,58	1,52 ± 0,32	15,87 ± 1,68
29.14	TN22W	33,02 ± 3,98	53,43 ± 4,47	0,76 ± 0,36	0,44 ± 0,22	12,36 ± 0,85
29.15	TN22W	37,63 ± 0,58	43,74 ± 2,53	0,55 ± 0,36	2,87 ± 0,29	15,21 ± 2,45
29.16	TN22W	37,04 ± 4,33	45,09 ± 4,13	1,71 ± 0,07	4,21 ± 1,94	11,95 ± 2,38
29.17	TN22W	19,38 ± 1,59	27,18 ± 4,57	0,81 ± 0,18	11,18 ± 2,12	41,45 ± 2,57
29.18	TN22W	40,49 ± 4,9	46,49 ± 3,46	0,69 ± 0,5	1,31 ± 0,66	11,02 ± 1,69

Tab. 23: IHC: Histomorphometrieresultate ROI-1 (Pixelanzahl), Kontralateralseite, Typ I- und Typ II-Fasern (Typ I, Typ II), endomysiales und perimysiales Fett (Fendo, Fperi), Bindegewebe (Bdgwb)

Tier Nr.	Gruppe	Typ I	Typ II	Fendo	Fperi	Bdgwb	Artefakt
29.01	T	937305	1693184	15344	99998	386611	103958
29.02	T	1083246	1301881	0	55559	554152	241562
29.03	T	1261704	1599576	12795	20522	258681	83122
29.04	T	797043	1524915	0	0	293690	620752
29.05	T	1121949	1277737	18323	0	500126	318265
29.06	T	814975	1571569	0	127705	551165	170986
29.07	TN6W	919422	1020880	15568	86341	1002013	192176
29.08	TN6W	1281774	954268	0	0	539129	461229
29.09	TN6W	684322	1938629	11056	48486	338935	214972
29.10	TN6W	1352291	1061163	26598	68750	260291	467307
29.11	TN6W	1159061	1932274	0	0	81976	63089
29.12	TN6W	1627125	1521593	21070	0	55209	11403
29.13	TN22W	1119496	1751724	0	0	193356	171824
29.14	TN22W	1614186	1073673	0	0	123961	424580
29.15	TN22W	1522641	1409276	0	58713	234367	11403
29.16	TN22W	1131044	1786484	8755	0	166015	144102
29.17	TN22W	1478499	1103255	0	0	295712	358934
29.18	TN22W	1730525	1067112	10539	164075	252746	11403

Tab. 24: IHC: Histomorphometriresultate ROI-2 (Pixelanzahl), Kontralateralseite, Typ I- und Typ II-Fasern (Typ I, Typ II), endomysiales und perimysiales Fett (Fendo, Fperi), Bindegewebe (Bdgwb)

Tier Nr.	Gruppe	Typ I	Typ II	Fendo	Fperi	Bdgwb	Artefakt
29.01	T	1107599	1491170	0	0	281120	356511
29.02	T	894985	1731670	0	0	278428	331317
29.03	T	1438860	1727154	0	0	58978	11408
29.04	T	1130014	1610933	0	0	237299	258154
29.05	T	1498393	1395579	0	0	220974	121454
29.06	T	871024	1652385	0	9810	514756	188425
29.07	TN6W	1190431	1135299	8319	41104	659119	202128
29.08	TN6W	1271308	1321477	0	0	242444	401171
29.09	TN6W	928842	1930712	10567	0	86878	279401
29.10	TN6W	1428812	1034048	23563	137663	425535	186779
29.11	TN6W	713836	1920206	0	171747	257166	173445
29.12	TN6W	1770293	1331263	41463	0	81972	11409
29.13	TN22W	1257754	1654004	19485	0	176807	128350
29.14	TN22W	1755311	1194174	4074	80435	160719	41687
29.15	TN22W	1725296	1191698	0	0	188701	130705
29.16	TN22W	1307171	1745834	0	0	100118	83277
29.17	TN22W	1620055	1006606	0	0	401606	208133
29.18	TN22W	1943056	935150	0	4062	265642	88490

Tab. 25: IHC: Histomorphometriresultate ROI-3 (Pixelanzahl), Kontralateralseite, Typ I- und Typ II-Fasern (Typ I, Typ II), endomysiales und perimysiales Fett (Fendo, Fperi), Bindegewebe (Bdgwb)

Tier Nr.	Gruppe	Typ I	Typ II	Fendo	Fperi	Bdgwb	Artefakt
29.01	T	1058545	1782030	0	76374	270032	49419
29.02	T	892146	1824830	0	0	301262	218162
29.03	T	1036409	1558043	0	166907	447901	27140
29.04	T	1019261	2052434	0	20538	72717	71450
29.05	T	1410420	1330289	0	0	272928	222763
29.06	T	974207	1497715	0	0	561033	203445
29.07	TN6W	1576712	1163280	0	41774	427623	27011
29.08	TN6W	1488266	1143403	0	105200	384635	114896
29.09	TN6W	702496	1987092	0	0	239211	307601
29.10	TN6W	1374212	1197065	0	0	497284	167839
29.11	TN6W	985222	1946448	0	0	164153	140577
29.12	TN6W	2170618	972119	0	0	65032	28631
29.13	TN22W	1339326	1700560	0	0	124376	72138
29.14	TN22W	1856720	1120145	0	34389	181732	43414
29.15	TN22W	1916671	1185597	0	22404	100312	11416
29.16	TN22W	1280344	1593675	13565	90010	195444	63362
29.17	TN22W	1637548	1265361	0	0	311156	22335
29.18	TN22W	2289858	685625	0	20643	198362	41912

Tab. 26: IHC: Histomorphometrieresultate, Mittelwerte (aller 3 ROI) + SEM (%), Kontralateralseite, Typ I- und Typ II-Fasern (Typ I, Typ II), endomysiales und perimysiales Fett (Fendo, Fperi), Bindegewebe (Bdgwb)

Tier Nr.	Gruppe	Typ I	Typ II	Fendo	Fperi	Bdgwb
29.01	T	33,87 ± 2,49	53,92 ± 1,2	0,16 ± 0,16	1,86 ± 0,96	10,19 ± 1,14
29.02	T	32,18 ± 2,03	54,51 ± 5,53	0 ± 0	0,62 ± 0,62	12,69 ± 2,91
29.03	T	38,97 ± 3,59	50,94 ± 1,45	0,14 ± 0,14	1,95 ± 1,64	8 ± 3,5
29.04	T	33,54 ± 2,26	59,08 ± 3,13	0 ± 0	0,22 ± 0,22	7,16 ± 2,61
29.05	T	44,45 ± 3,03	44,24 ± 0,3	0,21 ± 0,21	0 ± 0	11,1 ± 3,07
29.06	T	29,09 ± 1,62	51,62 ± 1,41	0 ± 0	1,5 ± 1,34	17,79 ± 0,47
29.07	TN6W	39,52 ± 5,47	35,73 ± 1,15	0,26 ± 0,15	1,83 ± 0,5	22,65 ± 5,67
29.08	TN6W	46,23 ± 0,82	39,21 ± 3,76	0 ± 0	1,12 ± 1,12	13,43 ± 3,19
29.09	TN6W	26,02 ± 2,73	65,77 ± 1,09	0,24 ± 0,12	0,53 ± 0,53	7,44 ± 2,42
29.10	TN6W	46,82 ± 1,17	37,08 ± 1,6	0,58 ± 0,29	2,33 ± 1,31	13,19 ± 2
29.11	TN6W	30,55 ± 3,87	62,15 ± 0,63	0 ± 0	1,87 ± 1,87	5,43 ± 1,68
29.12	TN6W	57,67 ± 5,16	39,59 ± 4,94	0,65 ± 0,37	0 ± 0	2,09 ± 0,24
29.13	TN22W	39,77 ± 1,71	54,71 ± 1,24	0,21 ± 0,21	0 ± 0	5,31 ± 0,71
29.14	TN22W	56,83 ± 0,97	36,88 ± 0,93	0,04 ± 0,04	1,2 ± 0,73	5,04 ± 0,37
29.15	TN22W	54,07 ± 3,6	39,61 ± 2,1	0 ± 0	0,84 ± 0,53	5,48 ± 1,24
29.16	TN22W	39,46 ± 1,48	54,46 ± 2,23	0,24 ± 0,13	0,95 ± 0,95	4,9 ± 0,89
29.17	TN22W	51,94 ± 0,79	36,98 ± 1,9	0 ± 0	0 ± 0	11,07 ± 1,11
29.18	TN22W	62,36 ± 5,21	28,09 ± 3,45	0,11 ± 0,11	1,95 ± 1,57	7,5 ± 0,67

Tab. 27: OR: Histomorphometrieresultate (Pixelanzahl), Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

Tier Nr.	Gruppe	OP			K		
		Fett	Hntgrd	Artefakt	Fett	Hntgrd	Artefakt
29.01	T	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
29.02	T	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
29.03	T	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
29.04	T	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
29.05	T	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
29.06	T	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
29.07	TN6W	490171	2446060	300169	114682	2689030	432688
29.08	TN6W	165505	3044431	26464	52103	2975553	208744
29.09	TN6W	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
29.10	TN6W	661465	2526875	48060	54949	3156673	24778
29.11	TN6W	677178	2300212	259010	98381	3114436	23583
29.12	TN6W	295405	2924377	16618	47958	3181001	7441
29.13	TN22W	146961	3036110	53329	10583	3147089	78728
29.14	TN22W	933356	2205372	97672	n.v.	n.v.	n.v.
29.15	TN22W	716626	2350164	169610	33104	3108031	95265
29.16	TN22W	188220	2937424	110756	33948	2927683	274769
29.17	TN22W	88709	3007392	140299	20861	3058379	157160
29.18	TN22W	51300	2417080	768020	10789	2981974	243637

Tab. 28: OR: Histomorphometriresultate (%), Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

Tier Nr.	Gruppe	OP		K	
		Fett	Hntgrd	Fett	Hntgrd
29.01	T	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
29.02	T	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
29.03	T	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
29.04	T	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
29.05	T	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
29.06	T	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
29.07	TN6W	16,69	83,31	4,09	95,91
29.08	TN6W	5,16	94,84	1,72	98,28
29.09	TN6W	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
29.10	TN6W	20,75	79,25	1,71	98,29
29.11	TN6W	22,74	77,26	3,06	96,94
29.12	TN6W	9,17	90,83	1,49	98,51
29.13	TN22W	4,62	95,38	0,34	99,66
29.14	TN22W	29,74	70,26	n.v.	999
29.15	TN22W	23,37	76,63	1,05	98,95
29.16	TN22W	6,02	93,98	1,15	98,85
29.17	TN22W	2,87	97,13	0,68	99,32
29.18	TN22W	2,08	97,92	0,36	99,64

Tab. 29: Resultate der Faserzählung, Mittelwerte (aller 3 ROI) + SEM (Anzahl), Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

Tier Nr.	Gruppe	OP		K	
		Typ I	Typ II	Typ I	Typ II
29.01	T	28,33 ± 0,88	38,33 ± 3,18	30,67 ± 2,03	55,33 ± 1,33
29.02	T	37,33 ± 3,71	34 ± 1	30,33 ± 3,18	54,33 ± 7,06
29.03	T	48,67 ± 8,74	87,33 ± 8,41	33,67 ± 5,7	60 ± 2,89
29.04	T	30 ± 6,03	34 ± 6,66	26,33 ± 1,45	49,33 ± 2,33
29.05	T	50,33 ± 3,28	38,67 ± 4,67	51 ± 0,58	62 ± 6,43
29.06	T	25 ± 1,53	32,67 ± 0,88	25,67 ± 4,26	54,33 ± 7,22
29.07	TN6W	26,67 ± 2,85	45,33 ± 2,91	39,33 ± 2,33	40 ± 3,06
29.08	TN6W	63,33 ± 4,33	33,67 ± 3,67	41,33 ± 2,73	41,67 ± 5,78
29.09	TN6W	33,67 ± 1,86	20 ± 3,46	26 ± 2,52	80,67 ± 2,19
29.10	TN6W	48,33 ± 5,78	40,33 ± 4,91	40 ± 1,15	32,33 ± 2,73
29.11	TN6W	51 ± 5,13	61 ± 7,37	28 ± 5,13	61,67 ± 4,26
29.12	TN6W	26 ± 2	21,67 ± 4,26	36,33 ± 2,03	32,33 ± 3,18
29.13	TN22W	46,33 ± 3,76	37,67 ± 4,26	24 ± 4,04	54,67 ± 4,18
29.14	TN22W	32 ± 3,21	45 ± 0,58	38,33 ± 4,84	44,33 ± 4,33
29.15	TN22W	48 ± 1,53	54,67 ± 3,18	45,67 ± 4,37	47 ± 4,58
29.16	TN22W	38,33 ± 4,48	59,33 ± 11,05	33 ± 1,15	55,33 ± 0,67
29.17	TN22W	36,67 ± 3,48	32,67 ± 1,2	57 ± 5,51	63,33 ± 7,84
29.18	TN22W	29,33 ± 4,63	34,33 ± 2,85	51,67 ± 7,69	33,33 ± 0,67

Tab. 30: Resultate der Querschnittsflächenberechnung = μm^3 / Faseranzahl, Mittelwerte aus 3 ROI (μm^3), Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

Tier Nr.	Gruppe	OP			K		
		Typ I	Typ II	Mittel	Typ I	Typ II	Mittel
29.01	T	3696,67	4242,32	3969,49	4024,55	3563,12	3793,84
29.02	T	2586,36	4256,39	3421,38	3793,28	3578,99	3686,14
29.03	T	2368,32	2441,96	2405,14	4517,68	3238,36	3878,02
29.04	T	2183,44	2349,62	2266,53	4447,20	4225,50	4336,35
29.05	T	2958,39	2599,88	2779,14	3140,86	2622,87	2881,86
29.06	T	4245,89	4344,46	4295,17	4256,04	3589,77	3922,90
29.07	TN6W	4150,28	4451,05	4300,66	3684,12	3347,88	3516,00
29.08	TN6W	3296,94	3293,92	3295,43	3906,68	3297,86	3602,27
29.09	TN6W	3444,64	1748,57	2596,61	3530,54	2885,54	3208,04
29.10	TN6W	1701,85	1687,15	1694,50	4132,27	4077,03	4104,65
29.11	TN6W	3277,27	2693,48	2985,38	4122,34	3764,52	3943,43
29.12	TN6W	5812,66	3848,65	4830,65	6060,24	4675,41	5367,83
29.13	TN22W	3137,10	4377,64	3757,37	6427,47	3754,56	5091,01
29.14	TN22W	3801,43	4387,54	4094,48	5566,77	3069,93	4318,35
29.15	TN22W	2970,20	3030,03	3000,11	4526,82	3238,43	3882,63
29.16	TN22W	3646,68	2853,72	3250,20	4468,65	3678,55	4073,60
29.17	TN22W	2039,44	3155,29	2597,37	3343,81	2144,49	2744,15
29.18	TN22W	5312,53	5167,02	5239,77	4699,35	3186,53	3942,94

Tab. 31: Resultate der qualitativen Beurteilung, Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K), Abkürzungen vgl. Tab. 4

Tier Nr.	Gruppe	Fvak		Abn		TypIAbn		TypIIAbn		Inn		Entzdg		Para		Art	
		OP	K	OP	K	OP	K	OP	K	OP	K	OP	K	OP	K	OP	K
29.01	T	1,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	1,67	1,33	2,00	2,00	2,00	2,00	1,00	1,00
29.02	T	1,00	2,00	2,00	1,33	2,00	2,00	2,00	2,00	1,67	2,00	1,33	1,67	1,67	1,67	1,00	1,00
29.03	T	1,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	1,33	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	1,00	1,33
29.04	T	1,00	2,00	1,67	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	1,00	1,00	1,00	2,00	1,67	2,00	1,33	1,00
29.05	T	2,00	2,00	2,00	1,67	2,00	1,67	2,00	2,00	2,00	2,00	1,33	2,00	2,00	2,00	1,33	1,00
29.06	T	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	1,33	1,67	1,33	2,00	2,00	2,00	1,33	1,00
29.07	TN6W	2,00	2,00	2,00	1,67	2,00	2,00	2,00	1,67	1,33	2,00	2,00	2,00	2,00	1,67	1,00	1,33
29.08	TN6W	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	1,67	1,33	2,00	2,00	2,00	2,00	1,67	1,00	1,00
29.09	TN6W	1,00	2,00	2,00	2,00	1,00	2,00	2,00	1,67	1,00	2,00	1,00	2,00	2,00	2,00	1,00	1,67
29.10	TN6W	1,00	2,00	2,00	1,67	2,00	1,67	2,00	1,67	1,00	1,67	1,33	2,00	2,00	2,00	1,33	1,00
29.11	TN6W	1,00	2,00	2,00	1,67	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	1,33	1,33
29.12	TN6W	1,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	1,33	2,00	1,33	2,00	1,67	2,00	1,00	1,67
29.13	TN22W	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	1,33	2,00	1,33	2,00	1,67	1,67	1,33	1,00
29.14	TN22W	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	1,67	2,00	2,00	2,00	1,67	2,00	1,00	1,33
29.15	TN22W	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	1,67	2,00	2,00	2,00	1,33	1,67
29.16	TN22W	2,00	2,00	2,00	2,00	1,67	2,00	2,00	2,00	1,67	2,00	1,67	2,00	1,67	1,67	1,33	1,33
29.17	TN22W	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	1,00	2,00	1,00	2,00	2,00	2,00	1,33	1,00
29.18	TN22W	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	1,33	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	1,33	1,33

Tab. 32: Resultate Fiederungswinkel (Mittelwert aus lateral und medial, FW (° Grad)), Faserbündellänge (Mittelwert aus lateral und medial, FL (cm)) und Muskelabstand zum Humeruskopf (MA (cm)) bei Woche 0 (t0), Woche 6 (t6), Woche 16 (t16) und Woche 22 (t22), Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

Tier Nr.	Gruppe	Seite	FW_t0	FL_t0	MA_t0	FW_t6	FL_t6	MA_t6	FW_t16	FL_t16	MA_t16	FW_t22	FL_t22	MA_t22
29.01	T	OP	14,68	5,23	6,43	24,60	1,58	7,33	25,09	2,13	4,71	37,60	1,39	6,52
29.01	T	K	18,29	3,61	n.v.	19,45	3,14	n.v.	13,67	5,40	n.v.	18,11	4,48	n.v.
29.02	T	OP	23,47	3,03	9,05	23,76	2,78	6,34	18,85	2,84	5,66	27,59	2,67	7,39
29.02	T	K	17,50	3,88	n.v.	19,73	3,16	n.v.	21,82	3,16	n.v.	15,33	4,82	n.v.
29.03	T	OP	24,97	3,71	5,02	23,70	2,53	5,47	17,49	3,42	4,96	21,43	2,50	6,62
29.03	T	K	29,04	3,27	n.v.	31,10	2,48	n.v.	16,27	4,88	n.v.	13,31	4,50	n.v.
29.04	T	OP	25,53	3,05	4,93	53,58	1,21	6,71	29,47	1,70	4,72	39,39	1,59	7,41
29.04	T	K	20,74	3,40	n.v.	24,04	3,72	n.v.	20,95	3,62	n.v.	19,36	3,68	n.v.
29.05	T	OP	32,76	2,37	5,61	26,87	1,41	4,59	30,53	1,49	6,78	54,13	1,29	4,67
29.05	T	K	16,11	3,56	n.v.	30,60	2,10	n.v.	22,30	3,08	n.v.	15,09	4,31	n.v.
29.06	T	OP	21,49	3,45	4,96	40,12	1,48	6,50	52,77	1,26	7,03	39,27	1,58	5,95
29.06	T	K	14,83	5,01	n.v.	26,79	2,83	n.v.	18,45	4,26	n.v.	11,22	6,22	n.v.
29.07	TN6W	OP	19,34	4,16	5,70	32,04	1,85	5,04	23,08	3,37	6,95	32,16	2,55	6,58
29.07	TN6W	K	17,71	4,12	n.v.	27,86	2,48	n.v.	15,97	5,11	n.v.	14,43	5,72	n.v.
29.08	TN6W	OP	27,42	3,07	5,87	31,89	2,00	5,23	28,56	2,38	5,89	33,08	1,95	6,10
29.08	TN6W	K	28,01	2,86	n.v.	26,55	2,73	n.v.	30,74	2,52	n.v.	23,82	2,99	n.v.
29.09	TN6W	OP	23,08	3,45	6,84	55,23	1,14	6,36	25,63	2,50	7,68	42,84	1,61	5,70
29.09	TN6W	K	13,83	5,63	n.v.	32,55	2,43	n.v.	25,78	3,22	n.v.	19,52	3,93	n.v.
29.10	TN6W	OP	20,62	4,03	5,21	36,25	2,18	6,85	24,15	2,33	7,56	27,38	2,24	7,30
29.10	TN6W	K	20,19	4,14	n.v.	11,63	9,28	n.v.	11,32	5,67	n.v.	17,34	4,56	n.v.
29.11	TN6W	OP	31,84	2,97	5,24	71,89	1,27	5,41	32,87	2,36	5,33	29,71	2,46	6,82
29.11	TN6W	K	18,53	4,29	n.v.	38,43	2,21	n.v.	14,82	4,72	n.v.	20,99	4,12	n.v.
29.12	TN6W	OP	16,70	4,58	5,89	16,27	2,36	5,67	16,04	3,48	7,41	23,86	2,96	7,32
29.12	TN6W	K	24,50	2,62	n.v.	20,05	2,88	n.v.	8,53	10,83	n.v.	14,54	4,52	n.v.
29.13	TN22W	OP	31,34	2,61	4,50	43,86	1,36	6,98	25,68	2,20	5,32	20,55	3,01	6,12
29.13	TN22W	K	15,58	4,30	n.v.	23,66	2,96	n.v.	8,86	12,16	n.v.	21,47	4,06	n.v.
29.14	TN22W	OP	33,94	2,45	5,25	56,06	1,24	7,23	18,89	2,42	7,48	57,22	1,33	7,07
29.14	TN22W	K	19,36	4,76	n.v.	24,08	3,17	n.v.	20,42	4,08	n.v.	16,49	3,77	n.v.
29.15	TN22W	OP	24,51	2,98	5,64	33,14	1,60	8,96	16,36	3,92	6,07	32,03	1,27	8,21
29.15	TN22W	K	18,15	3,99	n.v.	22,31	3,52	n.v.	23,97	3,45	n.v.	17,08	5,05	n.v.
29.16	TN22W	OP	51,91	1,37	6,98	30,75	1,68	7,24	22,16	3,91	6,40	39,40	1,33	7,51
29.16	TN22W	K	23,78	3,32	n.v.	20,69	3,44	n.v.	22,05	2,94	n.v.	18,88	4,09	n.v.
29.17	TN22W	OP	30,86	2,79	6,28	30,65	1,54	7,81	30,58	1,52	8,48	n.v.	n.v.	8,40
29.17	TN22W	K	24,68	3,77	n.v.	27,54	2,86	n.v.	15,09	4,72	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
29.18	TN22W	OP	29,01	2,51	4,38	23,14	2,51	6,35	23,11	2,61	6,90	26,61	1,63	6,46
29.18	TN22W	K	19,80	3,60	n.v.	16,22	4,28	n.v.	16,15	4,52	n.v.	26,31	2,63	n.v.

Tab. 33: Gruppenmittelwerte und -standardfehler aller Messparameter (exkl. qualitative Beurteilung), Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

Gruppe Seite	Kontroll-Gruppe (I)		Nandrolon-6W-Gruppe (TN6W)		Nandrolon-22W-Gruppe (TN22W)		Gesamt
	OP	K	OP	K	OP	K	
Faserdurchmesser Typ I (μm)	47,75 \pm 2,62	58,68 \pm 3,24	51,47 \pm 4,54	57,65 \pm 2,45	49,37 \pm 1,81	59,16 \pm 2,51	54,01 \pm 1,37
Faserdurchmesser Typ II (μm)	50,54 \pm 3,12	51,48 \pm 1,77	44,89 \pm 4,4	51,51 \pm 1,84	52,54 \pm 2,18	46,58 \pm 2,11	49,59 \pm 1,14
Faserdurchmesser Mittelwert (μm)	49,14 \pm 2,5	55,08 \pm 2,38	48,18 \pm 4,03	54,58 \pm 1,99	50,96 \pm 1,49	52,87 \pm 2,03	51,8 \pm 1,05
Typ I-Faseranteil (%)	29,06 \pm 3,52	35,35 \pm 2,24	37,07 \pm 5,06	41,14 \pm 4,74	34,16 \pm 3,11	50,74 \pm 3,79	37,92 \pm 1,85
Typ II-Faseranteil (%)	37,71 \pm 5,69	52,39 \pm 2,01	29,46 \pm 6,9	46,59 \pm 5,54	43,21 \pm 3,54	41,79 \pm 4,35	41,86 \pm 2,22
Muskelfaseranteil (%)	66,77 \pm 7,41	87,74 \pm 1,63	66,54 \pm 9,38	87,72 \pm 3,2	77,37 \pm 6,26	92,53 \pm 0,93	79,78 \pm 2,78
endomysialer Fettanteil (%)	5,3 \pm 1,86	0,08 \pm 0,04	3,62 \pm 0,59	0,29 \pm 0,11	1,06 \pm 0,23	0,1 \pm 0,04	1,74 \pm 0,46
perimysialer Fettanteil (%)	11,31 \pm 3,94	1,02 \pm 0,35	11,01 \pm 3,64	1,28 \pm 0,36	3,59 \pm 1,61	0,82 \pm 0,3	4,84 \pm 1,16
Fettanteil (IHC) (%)	16,61 \pm 5,57	1,11 \pm 0,36	14,63 \pm 4,08	1,57 \pm 0,36	4,65 \pm 1,61	0,92 \pm 0,31	6,58 \pm 1,56
Bindegewebsanteil (%)	16,62 \pm 2,4	11,15 \pm 1,56	18,83 \pm 5,45	10,71 \pm 2,99	17,98 \pm 4,76	6,55 \pm 0,98	13,64 \pm 1,5
Fettanteil (OR) (%)	0 \pm 0	0 \pm 0	14,9 \pm 3,37	2,41 \pm 0,5	11,45 \pm 4,88	0,71 \pm 0,17	7,56 \pm 2
Typ I-Faseranzahl	36,61 \pm 4,4	32,94 \pm 3,81	41,5 \pm 6,15	35,17 \pm 2,68	38,44 \pm 3,06	41,61 \pm 5	37,71 \pm 1,73
Typ II-Faseranzahl	44,17 \pm 8,69	55,89 \pm 1,85	37 \pm 6,3	48,11 \pm 7,85	43,94 \pm 4,52	49,67 \pm 4,27	46,46 \pm 2,49
Faseranzahl Mittelwert	40,39 \pm 5,93	44,42 \pm 2,71	39,25 \pm 5,15	41,64 \pm 2,79	41,19 \pm 3,16	45,64 \pm 3,07	42,09 \pm 1,56
Typ I-Querschnittsfläche (μm^2 /Einzelfaser)	3006,51 \pm 330,45	4029,93 \pm 208,94	3613,94 \pm 548,35	4239,36 \pm 376,92	3484,56 \pm 445,04	4838,81 \pm 429,83	3868,85 \pm 181,95
Typ II-Querschnittsfläche (μm^2 /Einzelfaser)	3372,44 \pm 407,91	3469,77 \pm 214,24	2953,8 \pm 457,64	3674,71 \pm 260,96	3828,54 \pm 385	3178,75 \pm 235,69	3413 \pm 137,66
Querschnittsfläche Mittelwert (μm^2 /Einzelfaser)	3189,48 \pm 342,55	3749,85 \pm 195,77	3283,87 \pm 465,98	3957,03 \pm 310,57	3656,55 \pm 384,12	4008,78 \pm 310,42	3640,93 \pm 140,48
Muskelgewicht (g)	152,33 \pm 7,45	218,17 \pm 8,5	175,67 \pm 10,37	223,5 \pm 8,85	135,67 \pm 2,5	205 \pm 11,15	185,06 \pm 6,47
Muskelvolumen (ml)	145,5 \pm 6,36	204 \pm 6,98	163,5 \pm 9,31	211,5 \pm 9,15	128,33 \pm 3,17	194,83 \pm 8,08	174,61 \pm 5,94
Woche 0-Alter (Jahre)	1,94 \pm 0,04	1,94 \pm 0,04	2 \pm 0,05	2 \pm 0,05	1,98 \pm 0,04	1,98 \pm 0,04	1,97 \pm 0,02
Woche 0-Körpergewicht (kg)	45,25 \pm 1,95	45,25 \pm 1,95	48,35 \pm 1,54	48,35 \pm 1,54	46,72 \pm 1	46,72 \pm 1	46,77 \pm 0,62
Woche 16-Körpergewicht (kg)	55,53 \pm 1,73	55,53 \pm 1,73	57,83 \pm 2,32	57,83 \pm 2,32	57,75 \pm 1,69	57,75 \pm 1,69	57,04 \pm 0,75
Woche 22-Körpergewicht (kg)	59,28 \pm 1,97	59,28 \pm 1,97	61,67 \pm 2,11	61,67 \pm 2,11	58,5 \pm 0,67	58,5 \pm 0,67	59,82 \pm 0,69
Muskelabstand Woche 0 (cm)	6 \pm 0,65	0 \pm 0	5,79 \pm 0,24	0 \pm 0	5,51 \pm 0,41	0 \pm 0	5,77 \pm 0,26
Fiederungswinkel Woche 0 (Grad °)	23,82 \pm 2,4	19,42 \pm 2,09	23,17 \pm 2,28	20,46 \pm 2,07	33,6 \pm 3,88	20,23 \pm 1,41	23,45 \pm 1,24
Muskelabstand Woche 6 (cm)	3,48 \pm 0,4	3,79 \pm 0,26	3,71 \pm 0,26	3,94 \pm 0,45	2,45 \pm 0,23	3,96 \pm 0,21	3,55 \pm 0,15
Fiederungswinkel Woche 6 (Grad °)	6,16 \pm 0,4	0 \pm 0	5,76 \pm 0,29	0 \pm 0	7,43 \pm 0,36	0 \pm 0	6,45 \pm 0,26
Faserbündellänge Woche 6 (cm)	32,1 \pm 5	25,29 \pm 2,09	40,59 \pm 8,07	26,18 \pm 3,84	36,27 \pm 4,81	22,42 \pm 1,55	30,47 \pm 2,1
Muskelabstand Woche 16 (cm)	1,83 \pm 0,27	2,91 \pm 0,23	1,8 \pm 0,2	3,67 \pm 1,13	1,66 \pm 0,18	3,37 \pm 0,21	2,54 \pm 0,23
Fiederungswinkel Woche 16 (cm)	5,64 \pm 0,42	0 \pm 0	6,8 \pm 0,4	0 \pm 0	6,77 \pm 0,45	0 \pm 0	6,41 \pm 0,27
Faserbündellänge Woche 16 (Grad °)	29,03 \pm 5,22	18,91 \pm 1,4	25,06 \pm 2,31	17,86 \pm 3,52	22,8 \pm 2,05	17,76 \pm 2,26	21,9 \pm 1,35
Muskelabstand Woche 22 (cm)	2,14 \pm 0,34	4,07 \pm 0,39	2,74 \pm 0,22	5,35 \pm 1,2	2,76 \pm 0,39	5,31 \pm 1,4	3,73 \pm 0,37
Fiederungswinkel Woche 22 (Grad °)	6,43 \pm 0,42	0 \pm 0	6,64 \pm 0,27	0 \pm 0	7,29 \pm 0,38	0 \pm 0	6,79 \pm 0,21
Faserbündellänge Woche 16 (cm)	1,84 \pm 0,24	4,67 \pm 0,35	2,29 \pm 0,19	4,31 \pm 0,37	1,71 \pm 0,33	3,92 \pm 0,39	3,14 \pm 0,24
Muskelabstand Woche 22 (cm)	6,43 \pm 0,42	0 \pm 0	6,64 \pm 0,27	0 \pm 0	7,29 \pm 0,38	0 \pm 0	6,79 \pm 0,21
Fiederungswinkel Woche 22 (Grad °)	36,57 \pm 4,6	15,4 \pm 1,22	31,51 \pm 2,65	18,44 \pm 1,52	35,16 \pm 6,33	20,05 \pm 1,79	26,1 \pm 1,96
Faserbündellänge Woche 22 (cm)	1,84 \pm 0,24	4,67 \pm 0,35	2,29 \pm 0,19	4,31 \pm 0,37	1,71 \pm 0,33	3,92 \pm 0,39	3,14 \pm 0,24

8.2 Abbildungen



Abb. 4: OP-Vorbereitung: Schaf in Allgemeinanästhesie, rechte Schulter geschoren, rechte Gliedmasse unterfüttert

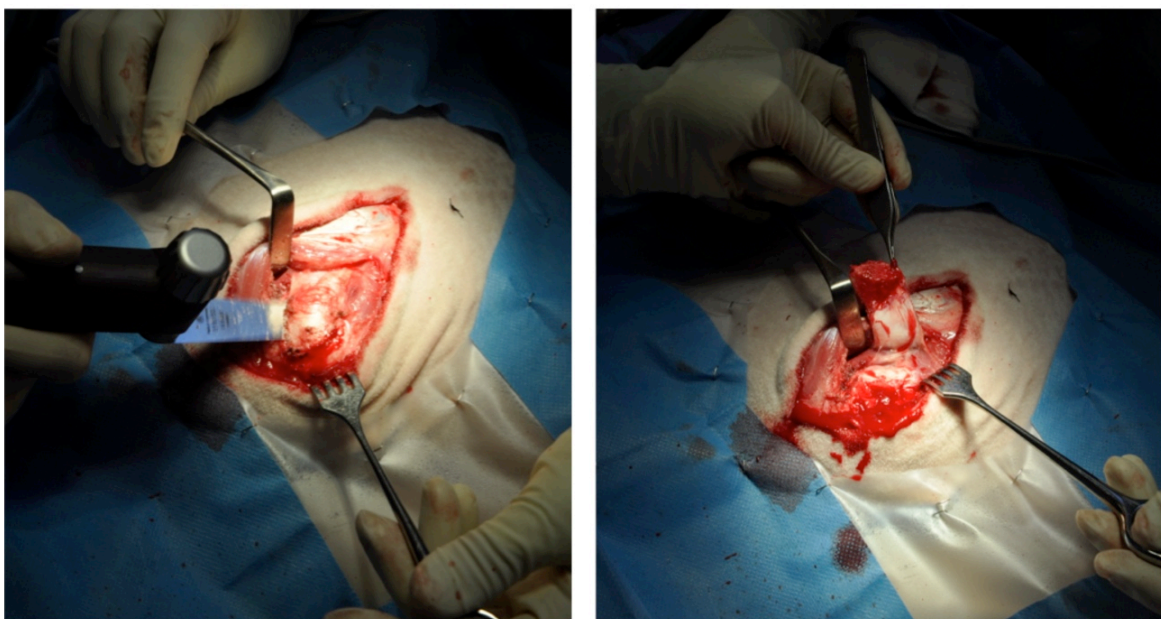


Abb. 5: Osteotomie zur Ablösung der Infraspinatussehne (Woche 0), Tier 29.01

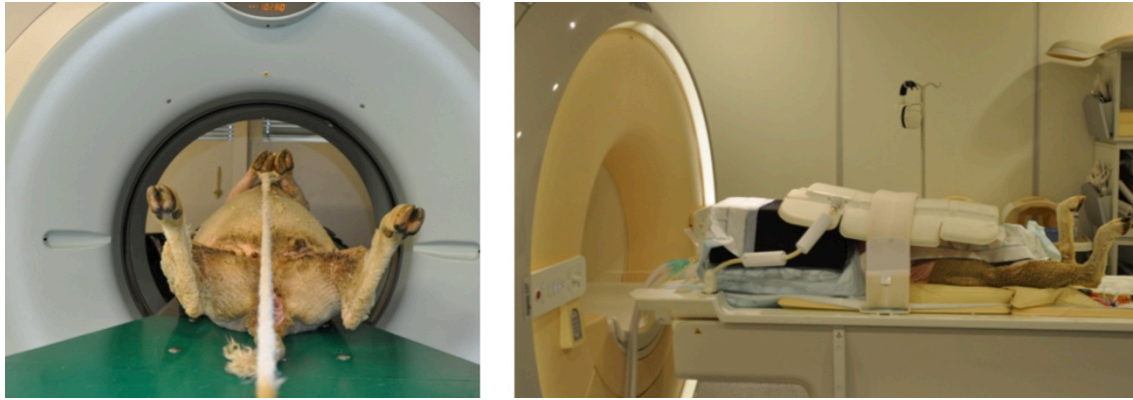


Abb. 6: Lagerung für CT und MRT, Tier 29.01

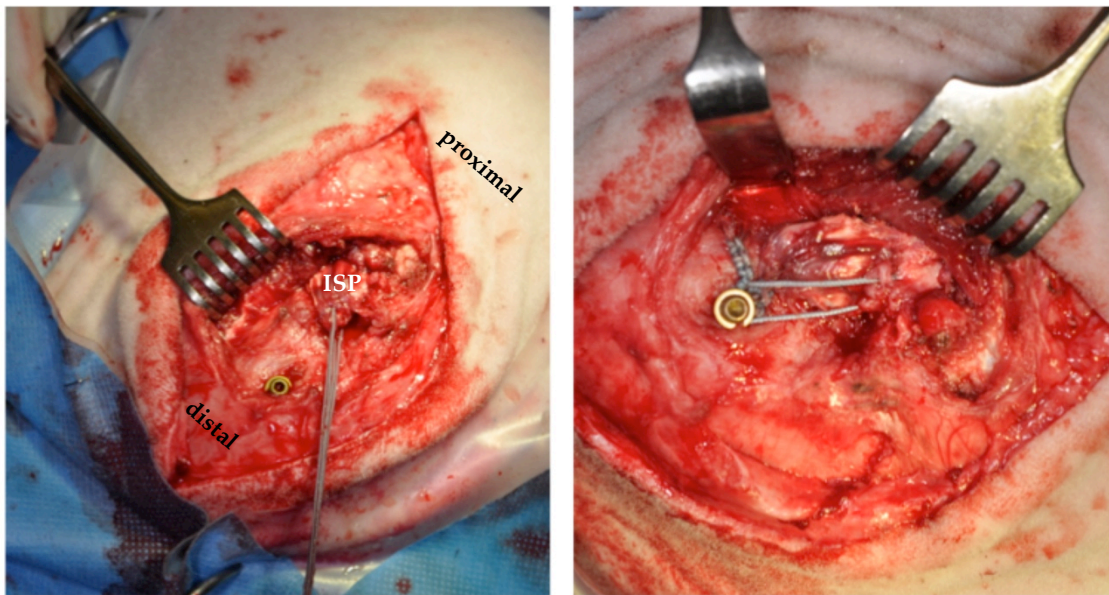


Abb. 7: Refixation des Knochenchips + ISP über Fadenschleife an Kortikalisschraube im Tuberculum majus des rechten Humerus (Woche 16), Tier 29.01



Abb. 8: Schaf in Suspensionssystem, Tier 29.02

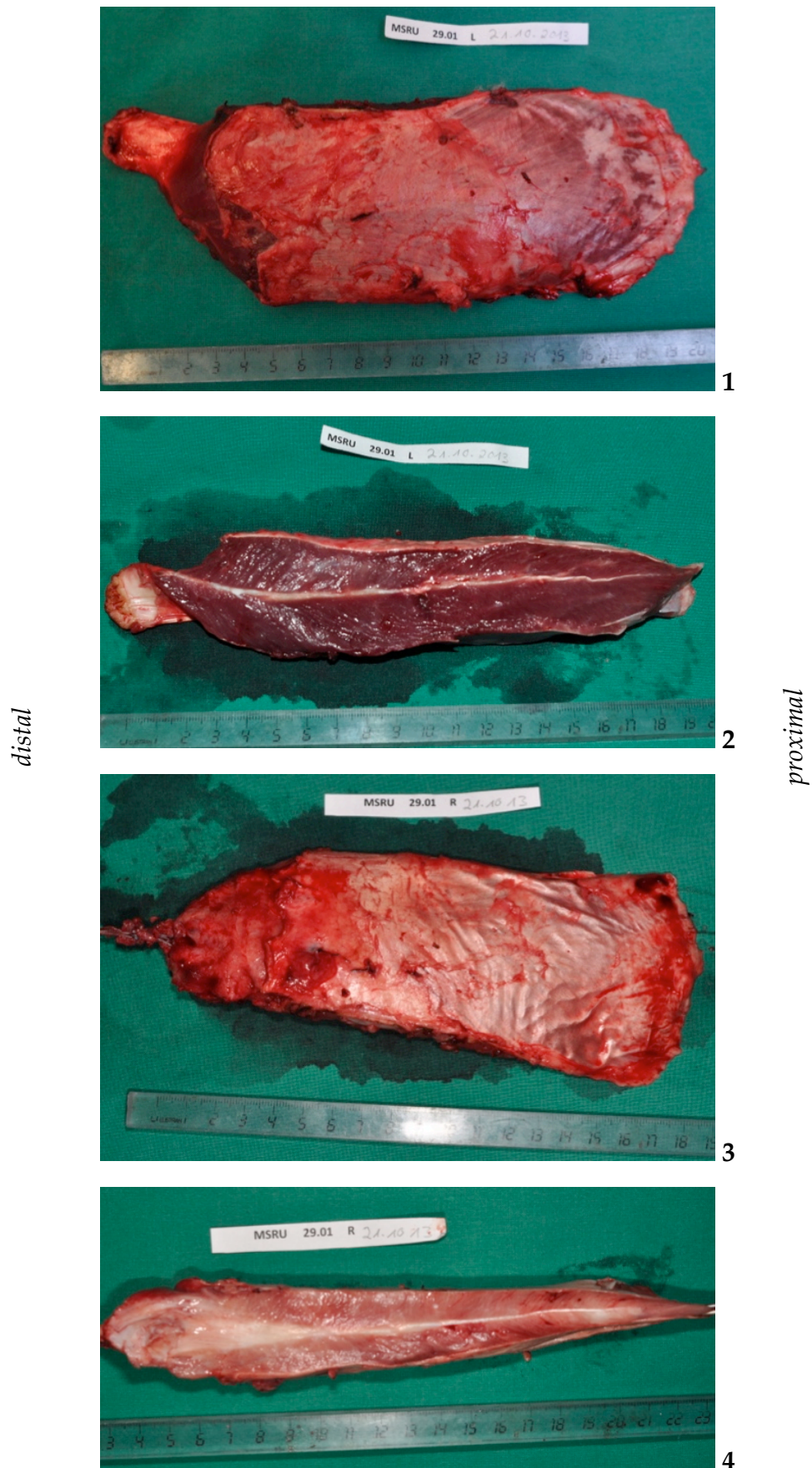


Abb. 9: Infraspinatusmuskel nach chirurgischer Entnahme, 1 + 3: Lateralfläche des ISP, 2 + 4: längsgespaltene ISP, 1 + 2: Kontralateralseite (links), 3 + 4: Interventionsseite (rechts), Tier 29.01

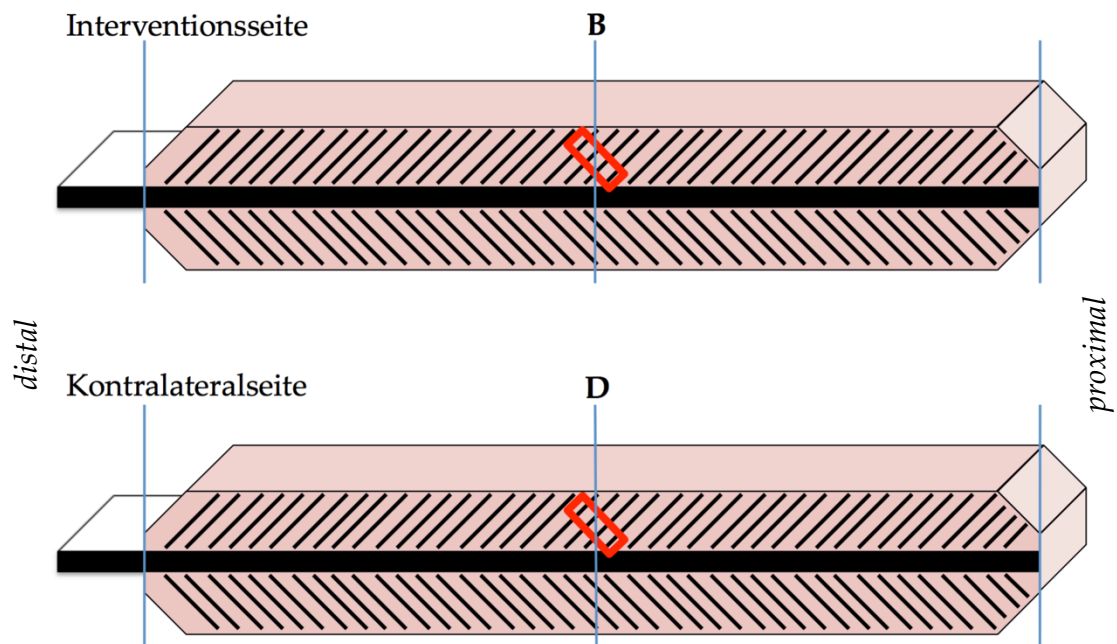


Abb. 10: Schema Biopsieentnahmestellen (rot) der Interventions- (B) und Kontralateralseite (D) mit ISP längs gespalten, Zentralsehne mit Muskelfasern in typischer Fischgrätenanordnung

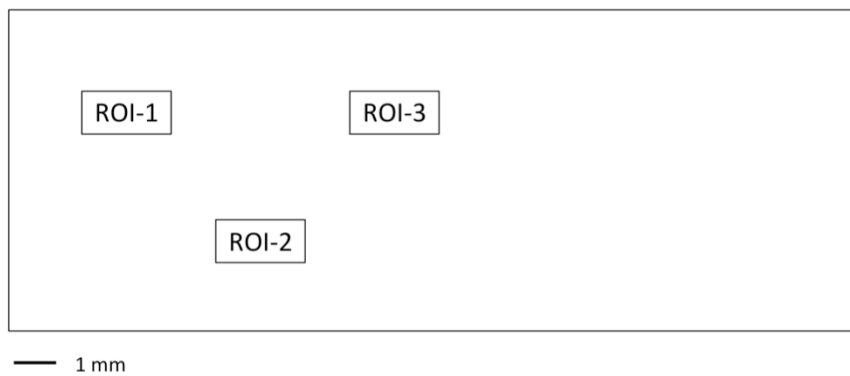


Abb. 11: Schablone zur Markierung von ROI 1, ROI 2 und ROI 3 auf Glasobjektträger

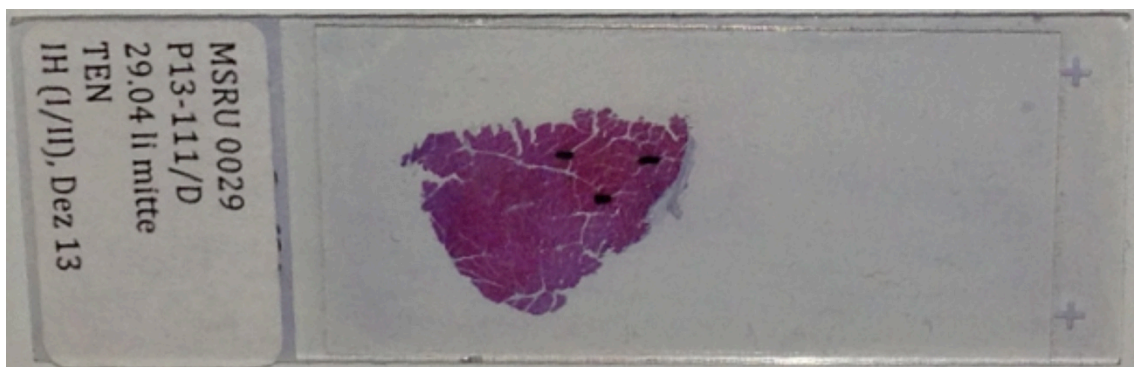


Abb. 12: Beispiel für ROI-Markierungen auf Objektträger

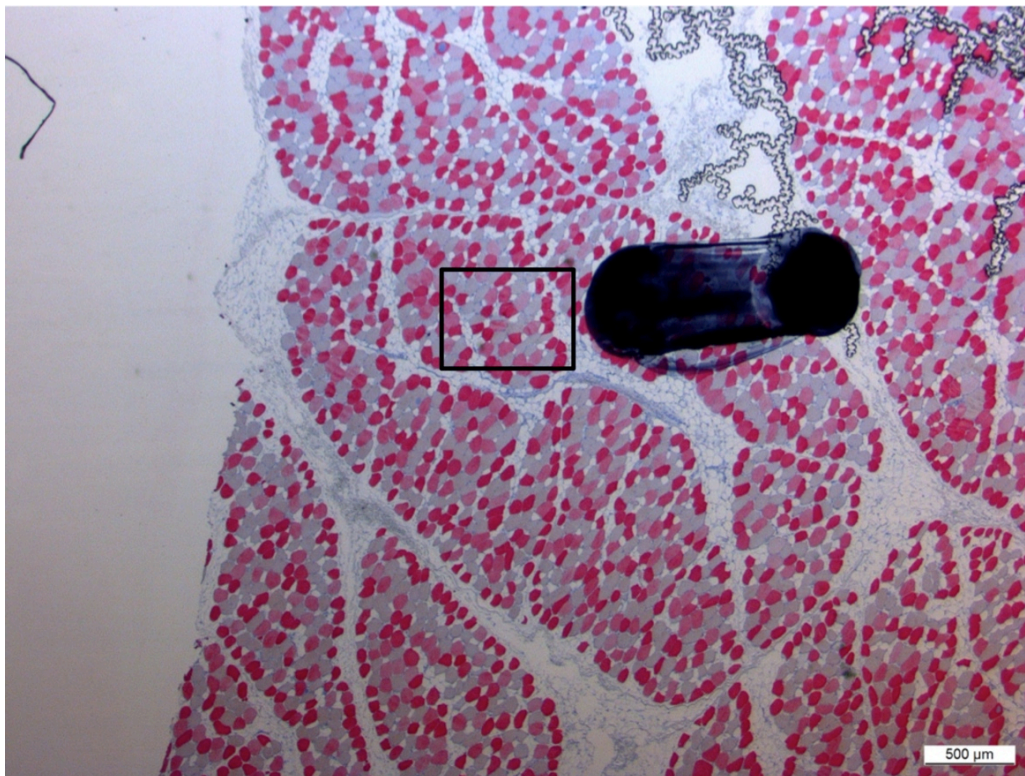


Abb. 13: Beispiel eines histologischen Muskelgewebeschnitt in Übersichtsvergrößerung zur Differenzierung von Endo- und Perimysium, Rechteck = ROI, Tier 29.06, Interventionsseite, Paraffinschnitt, IHC, Vergrößerung: 1.25x

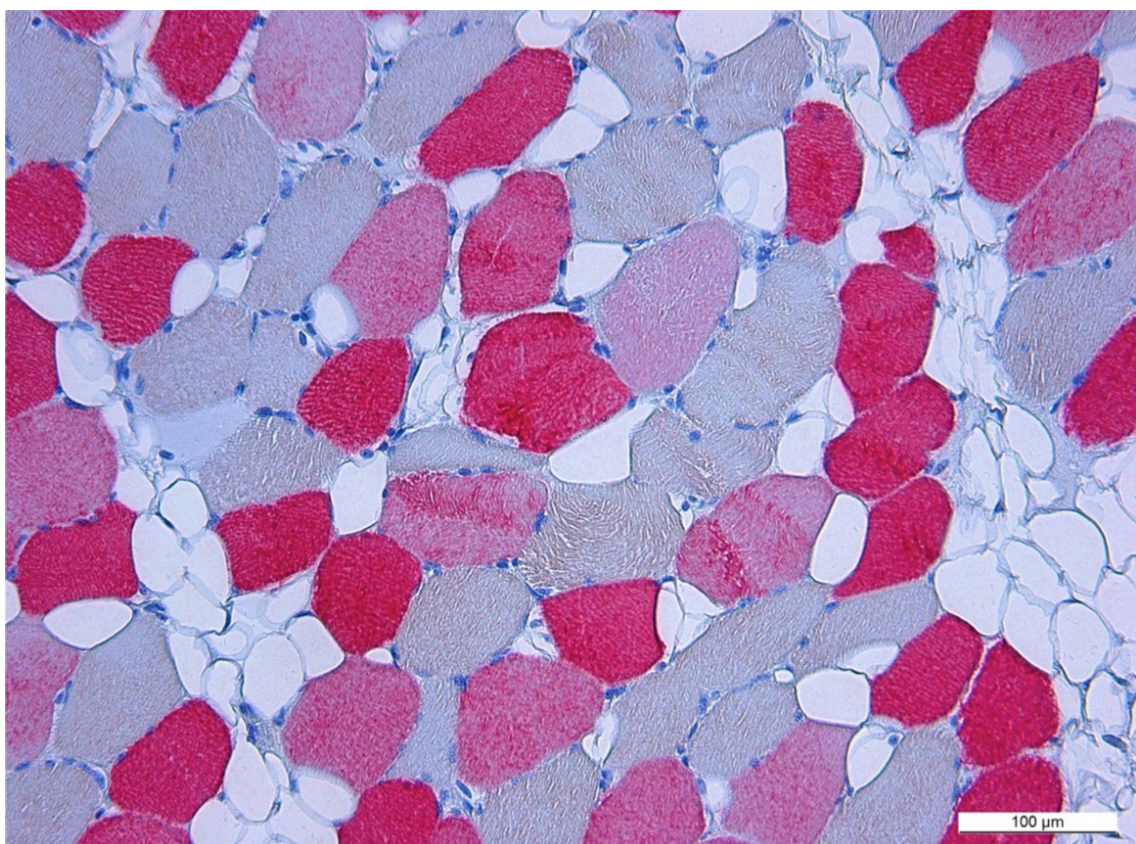


Abb. 14: Beispiel einer ROI-Aufnahmen, histologischer Muskelgewebeschnitt (ROI aus Abb. 13), Tier 29.06, Interventionsseite, Paraffinschnitt, IHC, Vergrößerung: 10x



Abb. 15: Beispiel einer Messung der typspezifischen Faserdurchmesser (ROI aus Abb. 13), Tier 29.06, Interventionsseite, Paraffinschnitt, IHC, Vergrößerung: 10x

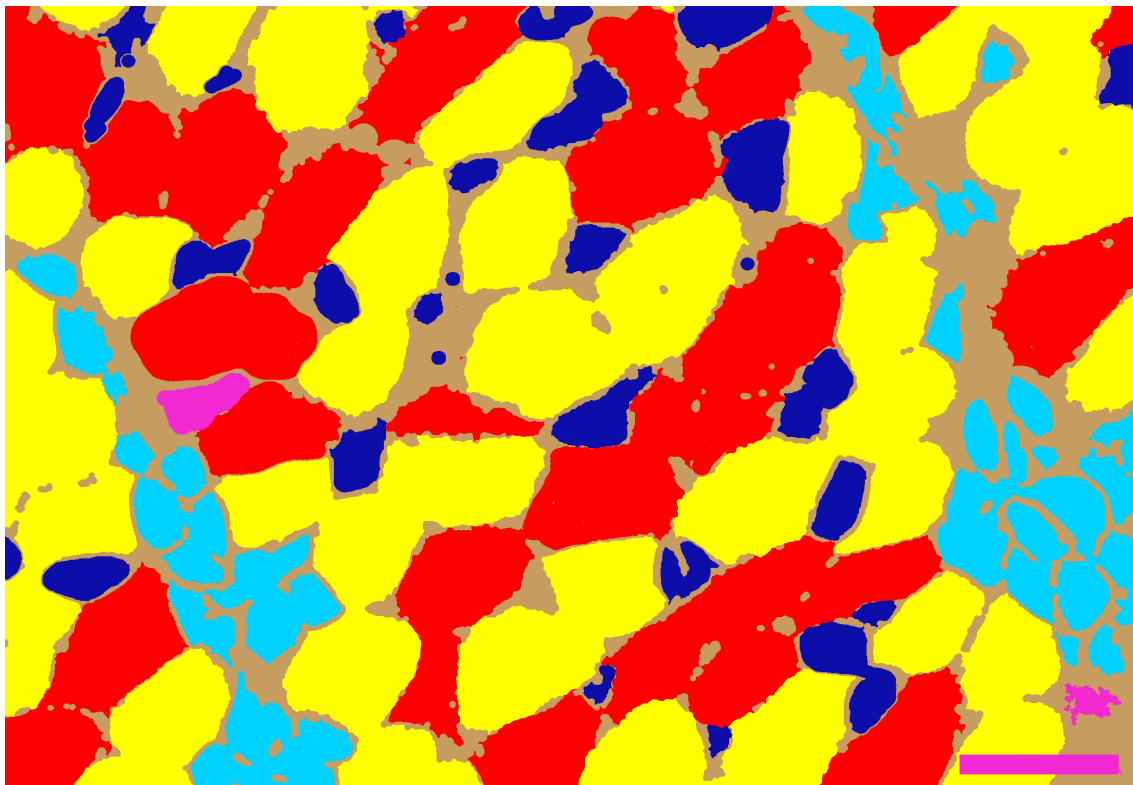


Abb. 16: Beispiel der Anfärbung der Gewebetypen zur Histomorphometrie (ROI aus Abb. 13), dunkelblau = endomysiales Fett, hellblau = perimysiales Fett, rot = Typ I-Fasern, gelb = Typ II-Fasern, beige = Hintergrund, pink = Artefakt

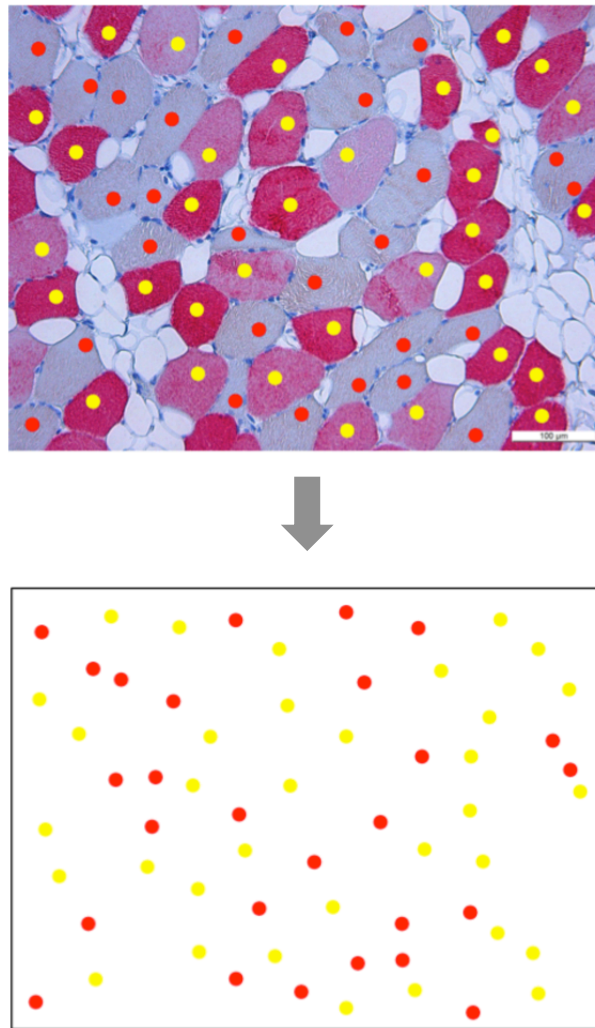


Abb. 17: Beispiel des Vorbereitungsprozesses zur typspezifischen Faserzählung mittels Punktmarkierung (ROI aus Abb. 13), rot = Typ I-Fasern, gelb = Typ II-Fasern

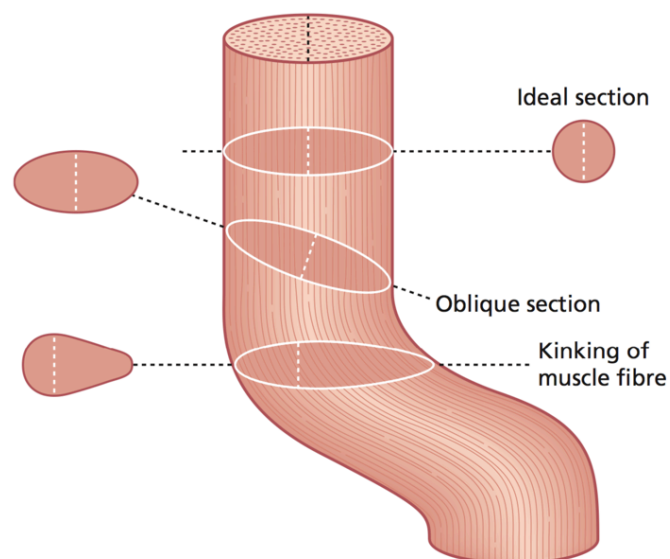


Abb. 18: Veranschaulichung der Verwendung des minimalen Faserdurchmessers im idealen Histoschnitt (Ideal section), im schrägen Histoschnitt (Oblique section) und bei geknickter Muskelfaser (Kinking of muscle fibre); Abbildung aus Dubowitz, 2013, Seite 61 [59]



Abb. 19: Transversale MRT-Aufnahme in Höhe M. infraspinatus und Schultergelenk, 1 + 2: medialer und lateraler ISP-Anteil der Kontralateralseite (links), 3 + 4: lateraler und medialer ISP-Anteil der Interventionsseite (rechts), T1W TSE, t22, Tier 29.06; erstellt mit OsiriX v. 5.6 32-bit, Pixmeo SARL

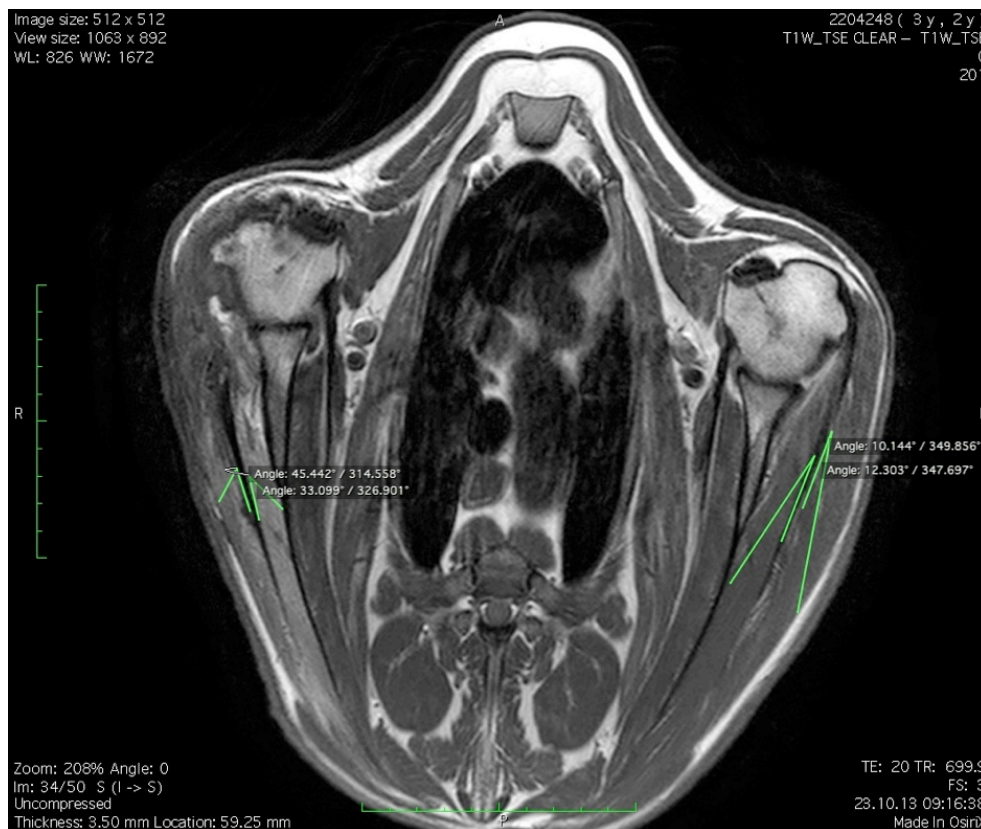


Abb. 20: Beispiel der Fiederungswinkelmessung in transversaler MRT-Aufnahme, T1W TSE, t22, Tier 29.06; erstellt mit OsiriX v. 5.6 32-bit, Pixmeo SARL

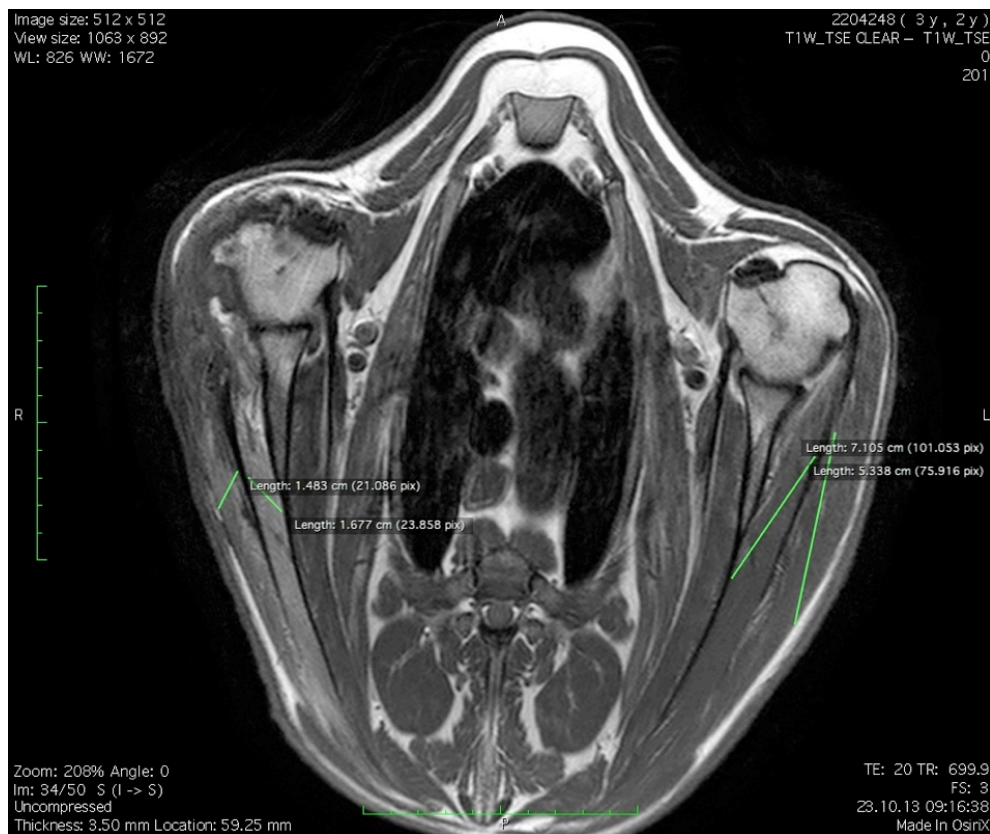


Abb. 21: Beispiel der Muskelfaserbündellängenmessung in transversaler MRT-Aufnahme, T1W TSE, t22, Tier 29.06; erstellt mit OsiriX v. 5.6 32-bit, Pixmeo SARL

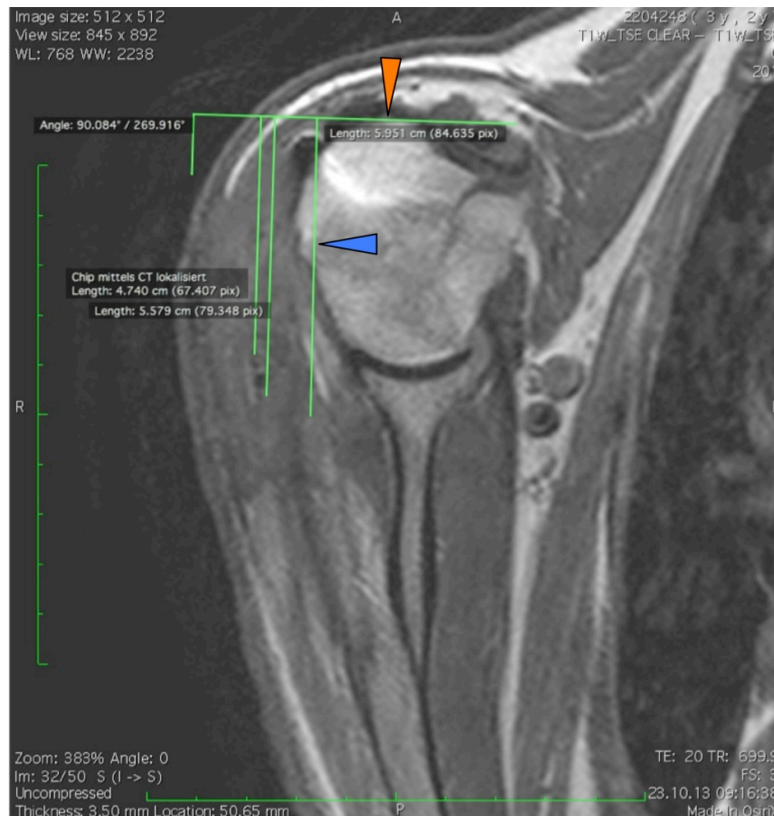


Abb. 22: Beispiel der Retraktionsmessungen in transversaler MRT-Aufnahme, T1W TSE, orange = Lot, blau = Abstand zwischen distaler Grenze des Infraspinatusmuskel und Lot, t22, Tier 29.06; erstellt mit OsiriX v. 5.6 32-bit, Pixmeo SARL

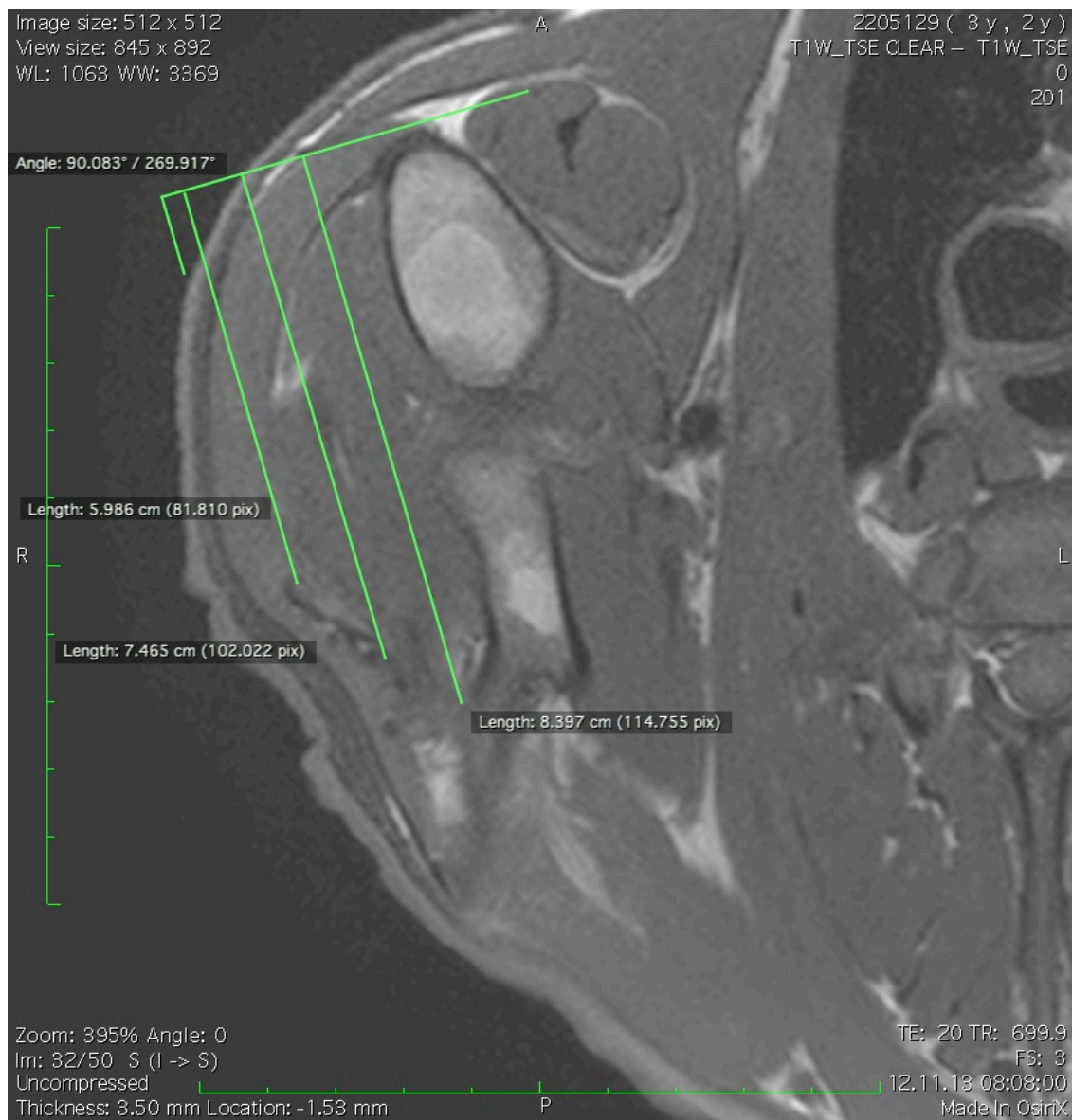


Abb. 23: Beispiel der Hautfaltenbildung, t22, Tier 29.17, Retraktionsmessung; erstellt mit OsiriX v. 5.6 32-bit, Pixmeo SARL

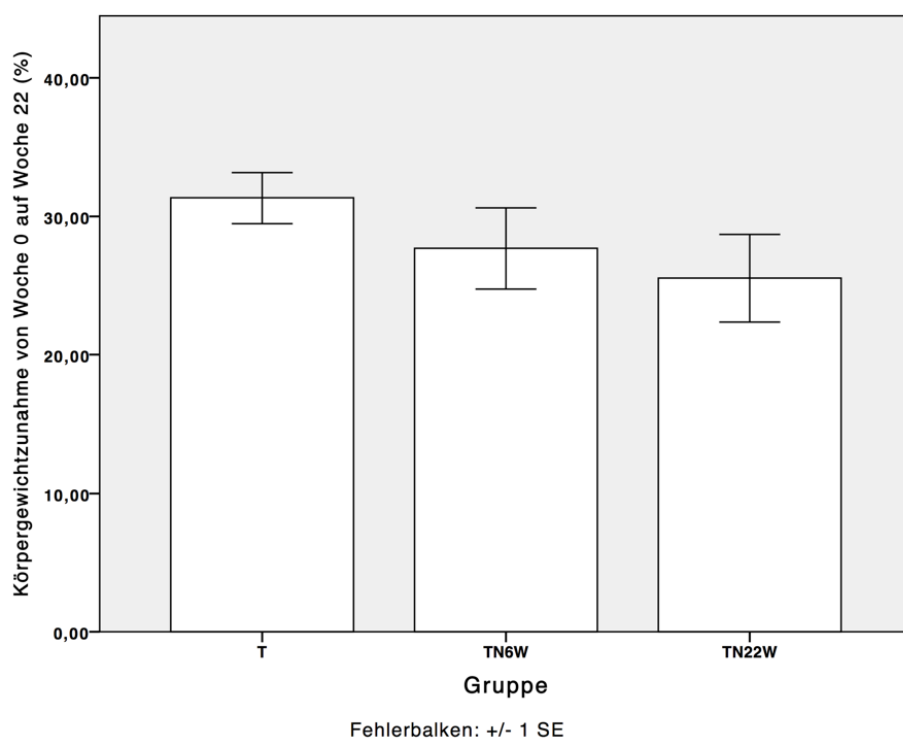


Abb. 24: Körpergewichtszunahme von Woche 0 zu Woche 22 (%)

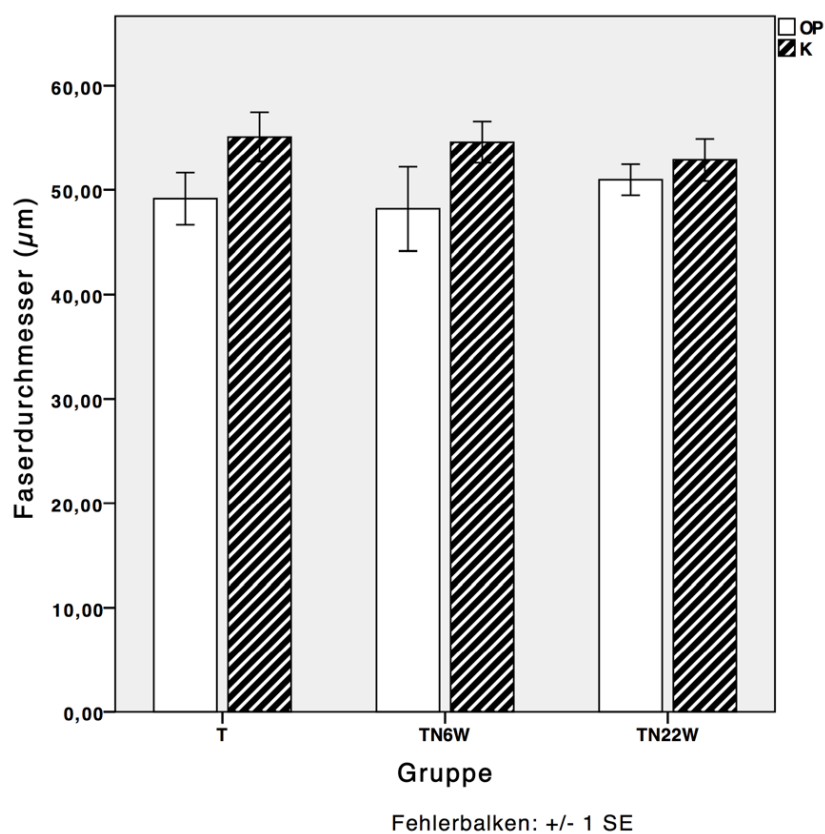


Abb. 25: Faserdurchmesser (μm); Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

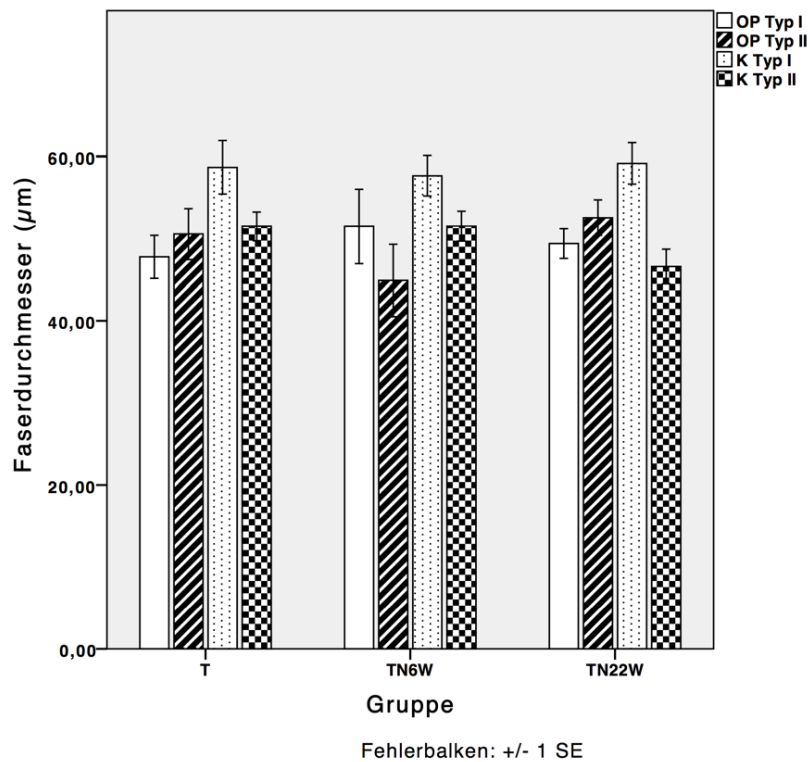


Abb. 26: Faserdurchmesser Typ I und Typ II; Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

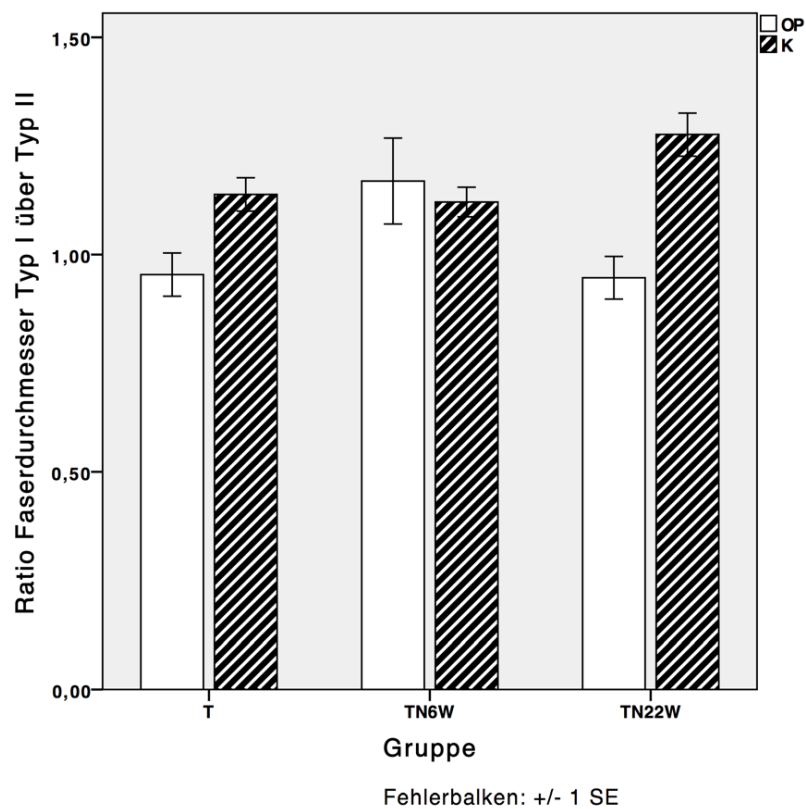


Abb. 27: Faserdurchmesser Quotient Typ I über Typ II; Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

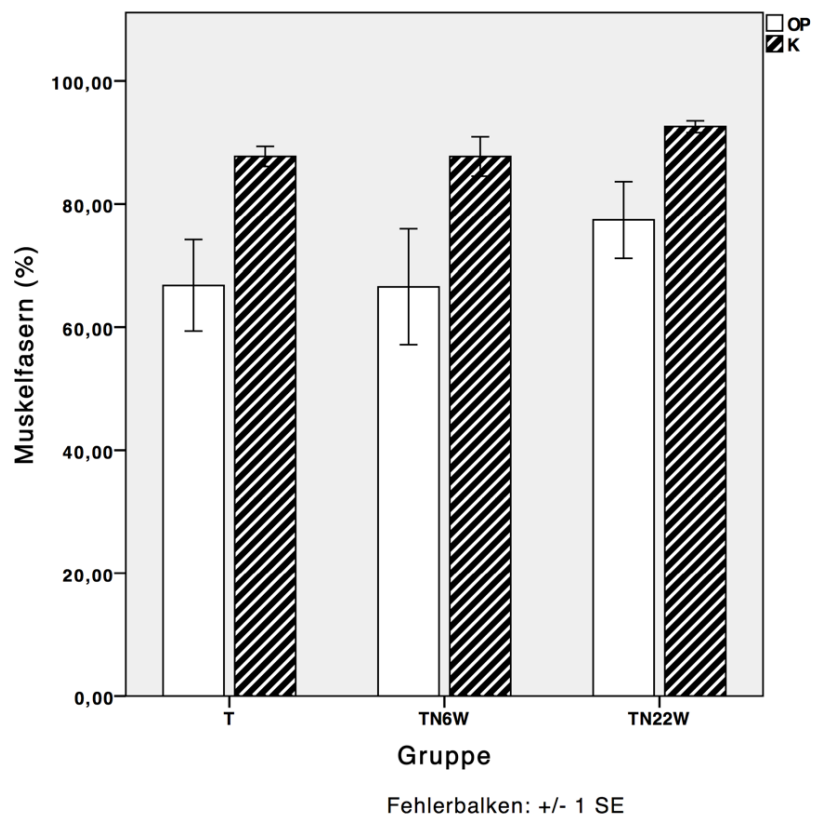


Abb. 28: Muskelfaseranteil (%) der Infraspinatusbiopsie als Mittelwert der Gruppen; Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

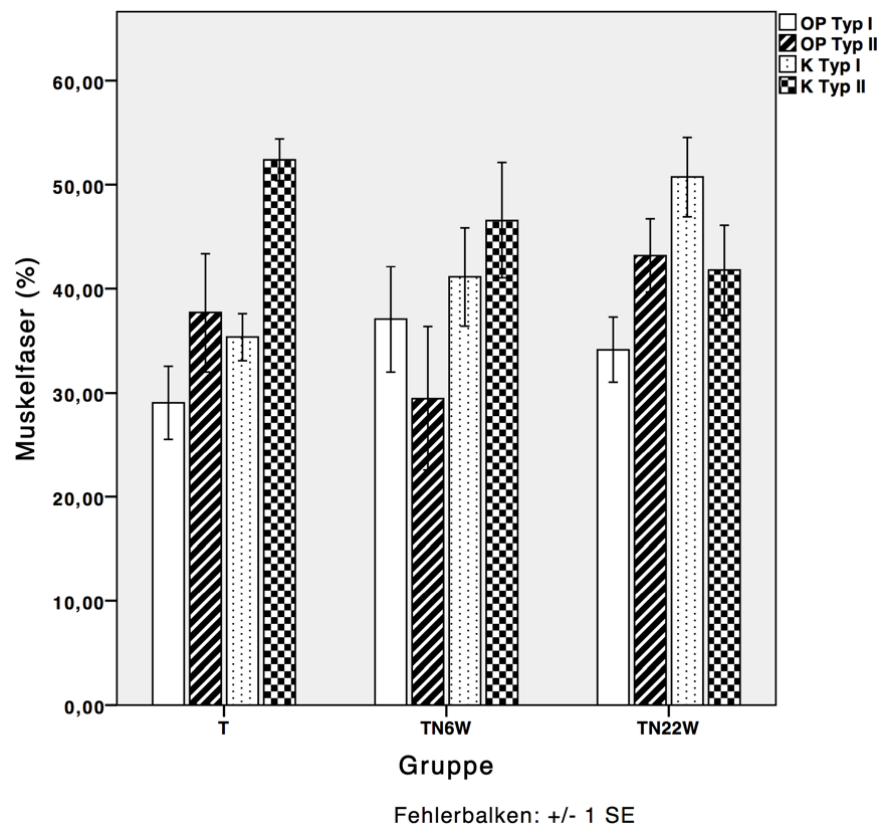


Abb. 29: Anteil der Typ I- und Typ II-Fasern (%) der Infraspinatusbiopsie als Mittelwert der Gruppen; Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

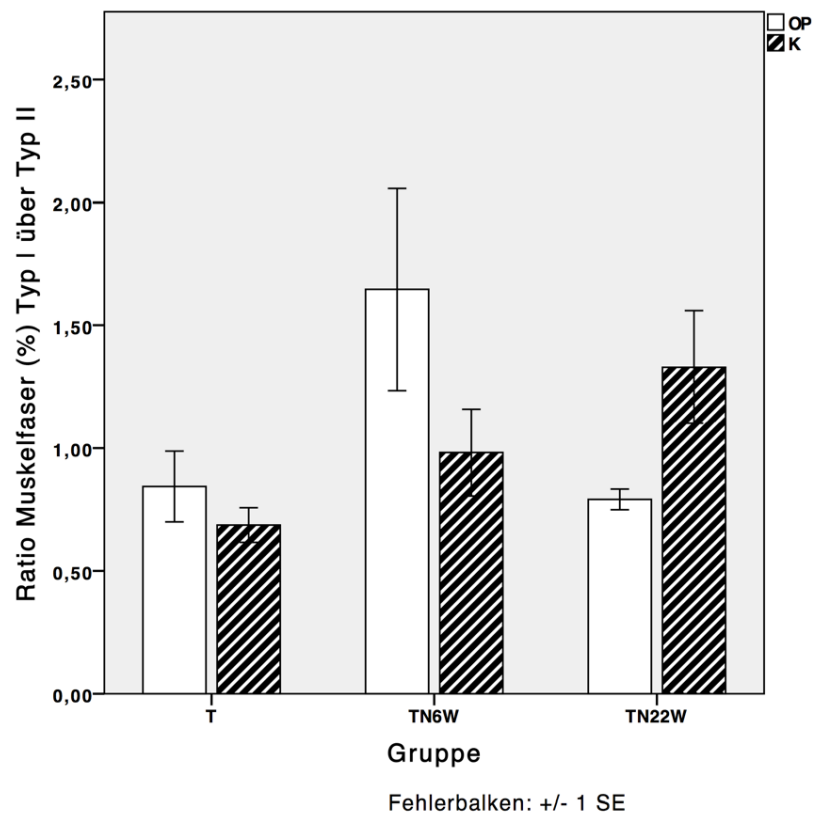


Abb. 30: Quotient aus Typ I- und Typ II-Faseranteil; Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

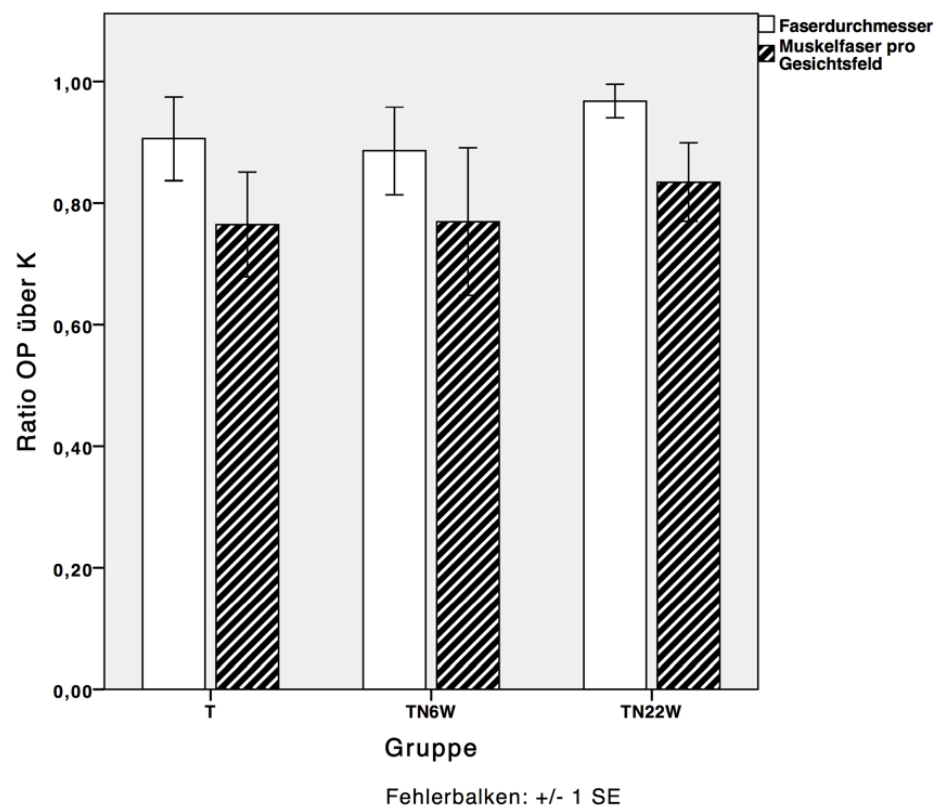


Abb. 31: Faserdurchmesser (μm) und Muskelfaseranteil (%): Quotient aus Interventions- und Kontralateralseite

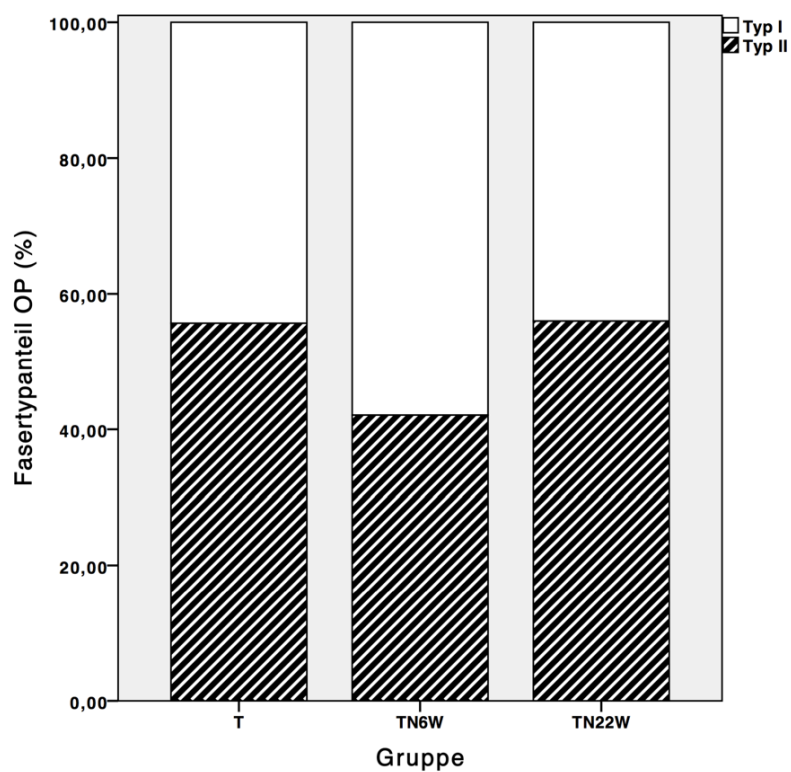


Abb. 32: Typ I-/Typ II-Faseranteil über Gesamtmuskelfaseranteil der Interventionsseite (%)

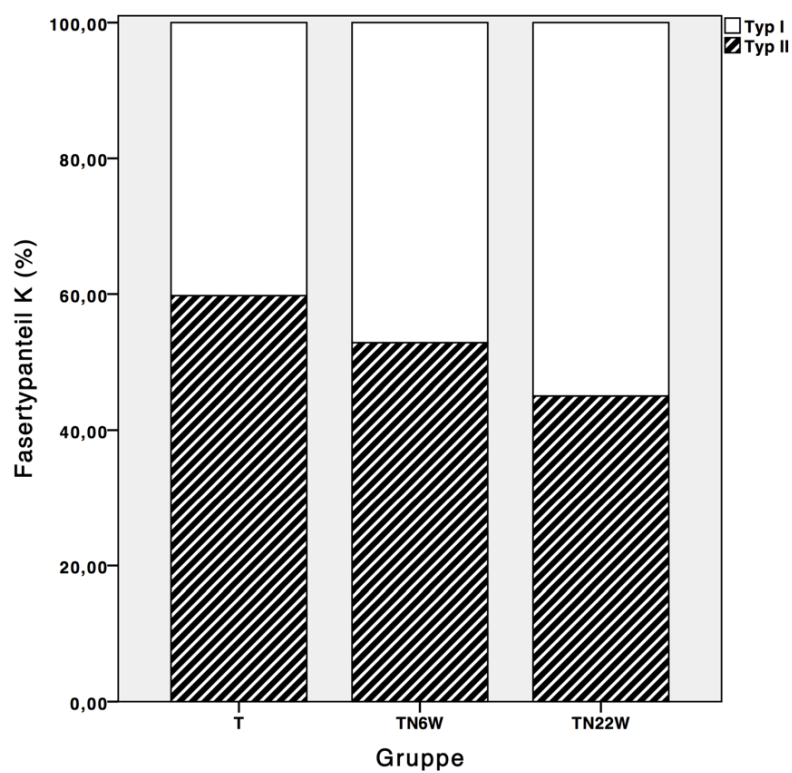


Abb. 33: Typ I-/Typ II-Faseranteil über Gesamtmuskelfaseranteil der Kontralateralseite (%)

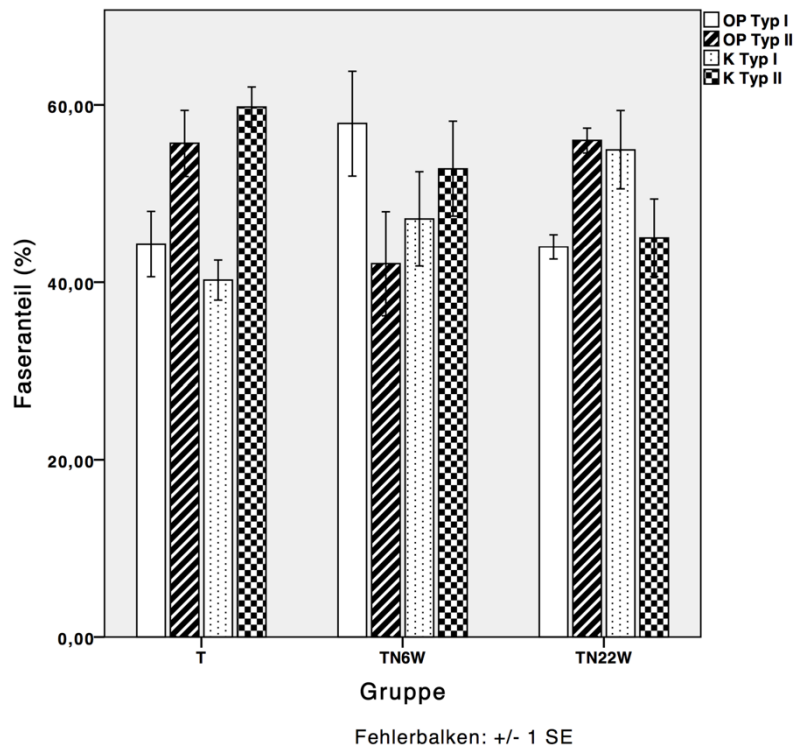


Abb. 34: Typ I-/Typ II-Faseranteil über Gesamtmuskelfaseranteil (%); Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

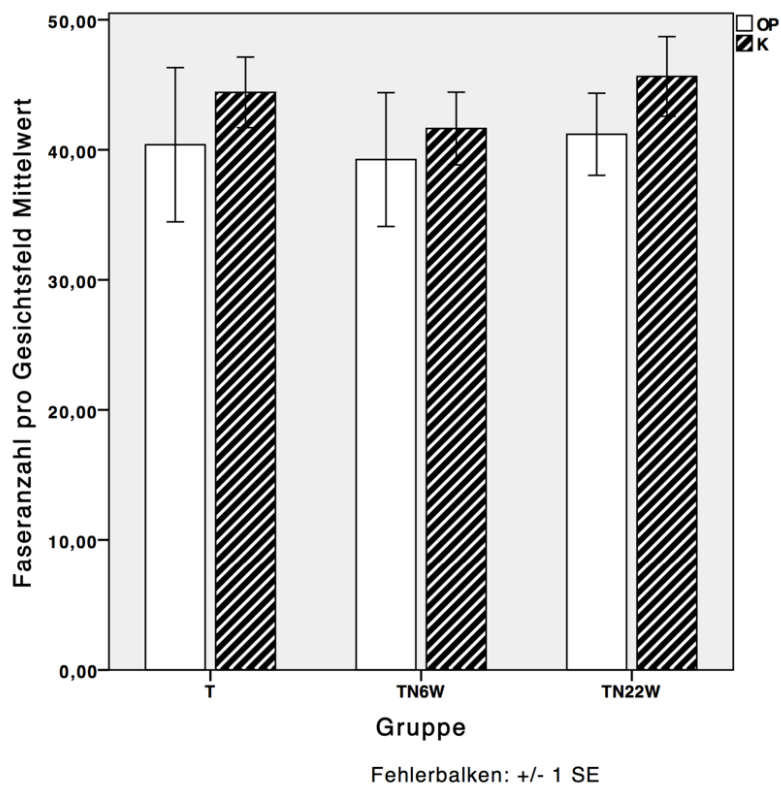


Abb. 35: Faseranzahl pro Gesichtsfeld (Mittelwert der Typ I- und Typ II-Fasern); Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

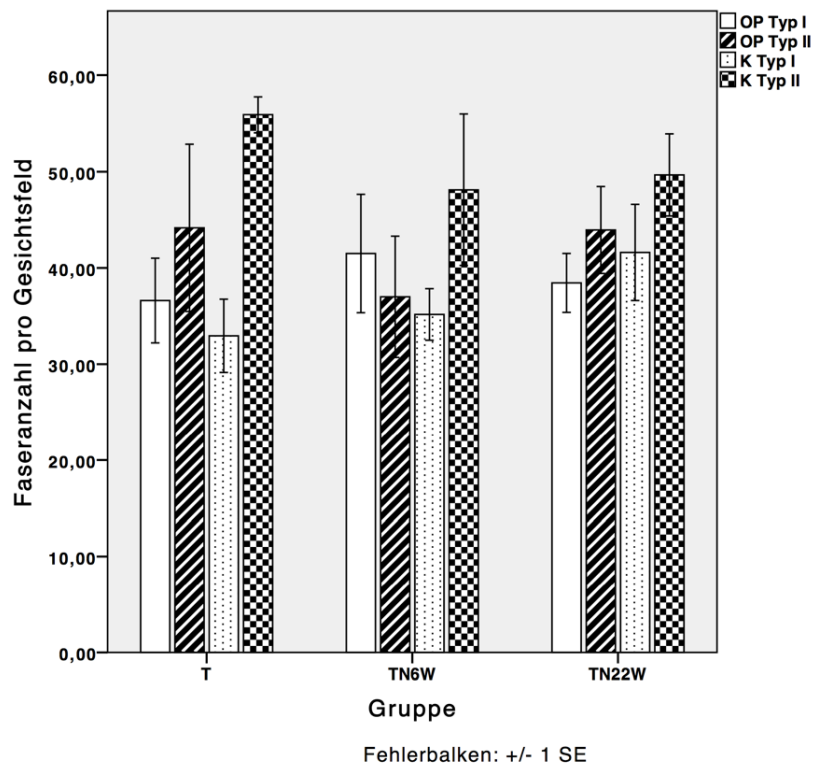


Abb. 36: Faseranzahl der Typ I- sowie Typ II-Fasern pro Gesichtsfeld; Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

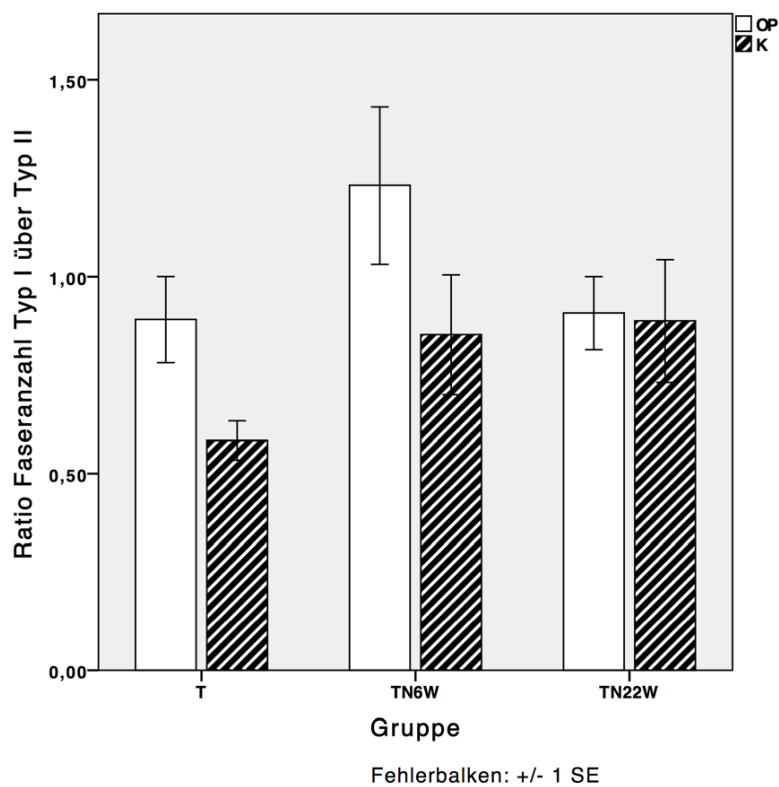


Abb. 37 : Quotient der Typ I- und Typ II-Faseranzahl; Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

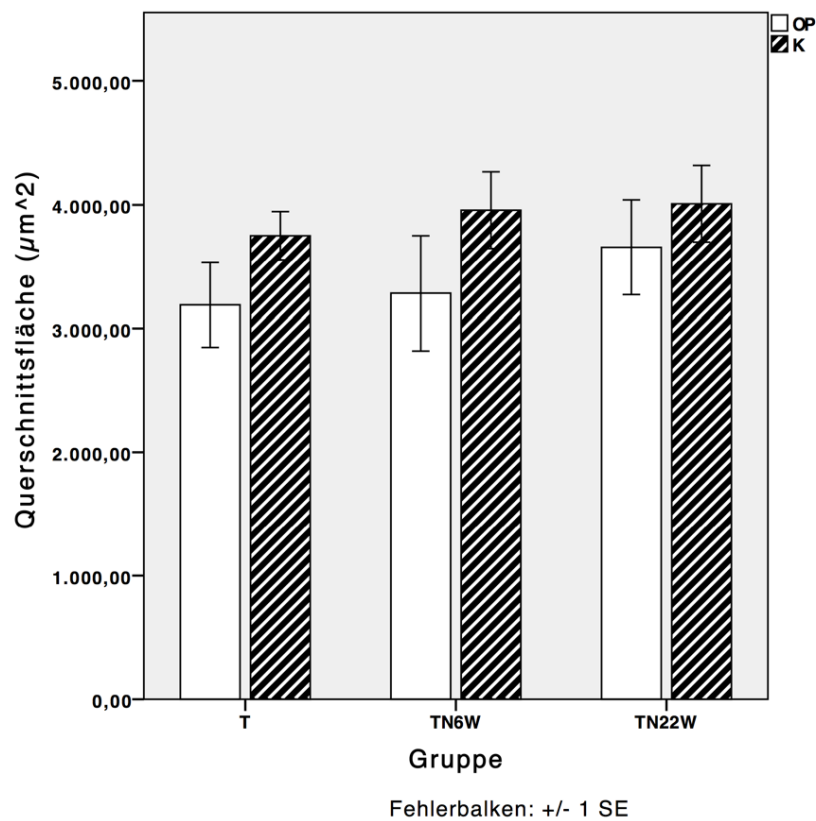


Abb. 38: Querschnittsfläche (μm^2 pro Einzelfaser), Mittelwert aus Typ I- und Typ II-Querschnittsfläche; Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

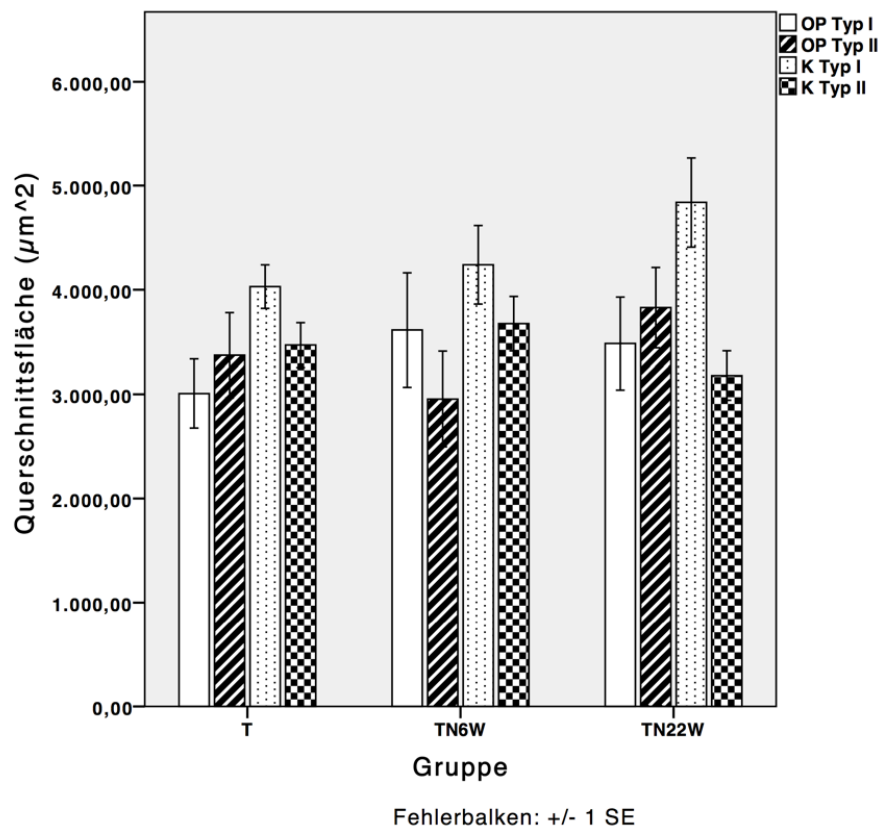


Abb. 39: Querschnittsfläche Typ I- und Typ II-Fasern (μm^2 pro Einzelfaser); Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

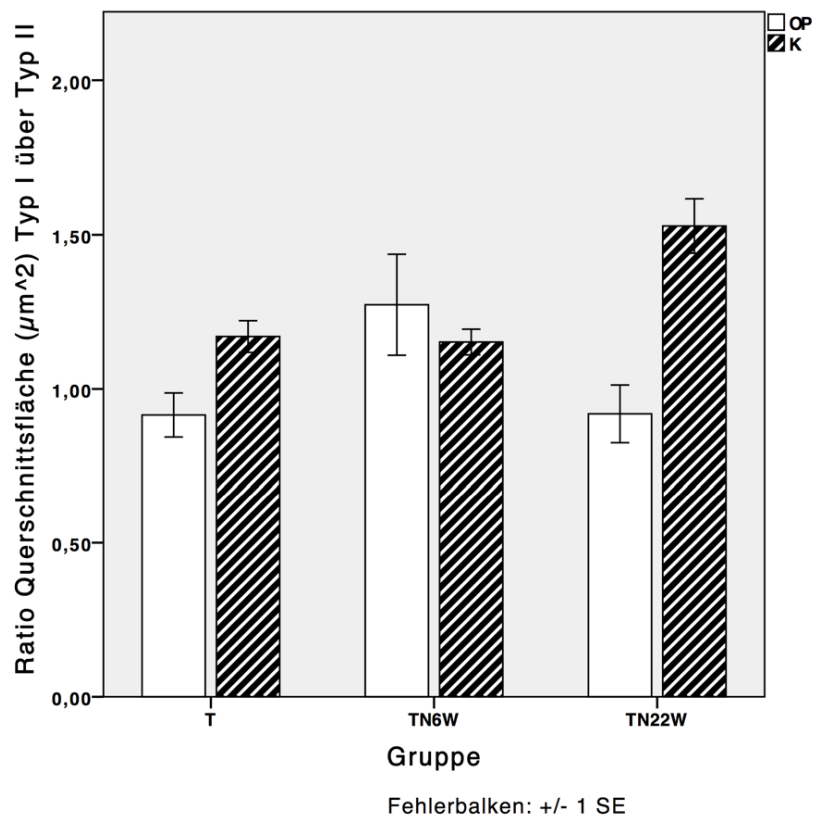


Abb. 40: Quotient aus Typ I- und Typ II-Querschnittsfläche; Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

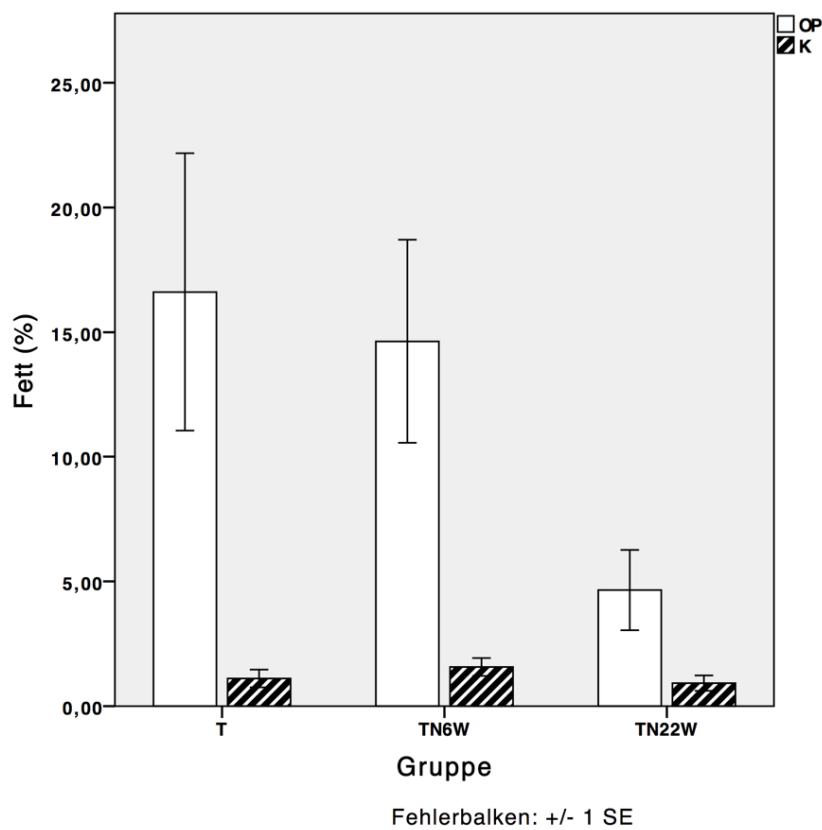


Abb. 41: Gesamtfettanteil der Biopsiestelle (%) (Summe aus endo- und perimysialem Fett); Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

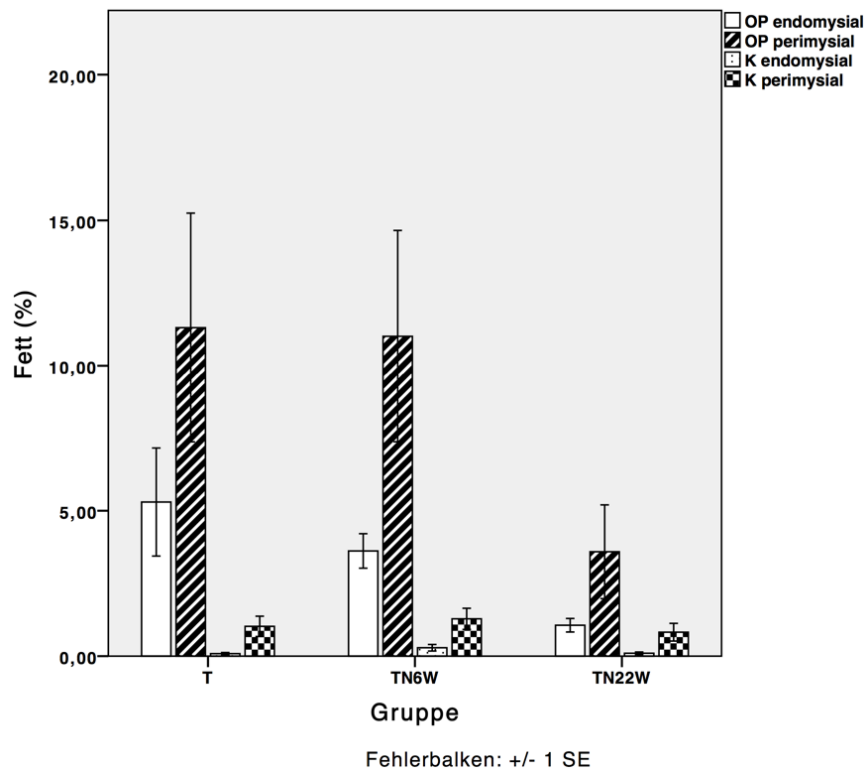


Abb. 42: Endo- und perimysialer Fettanteil der Biopsiestelle (%); Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

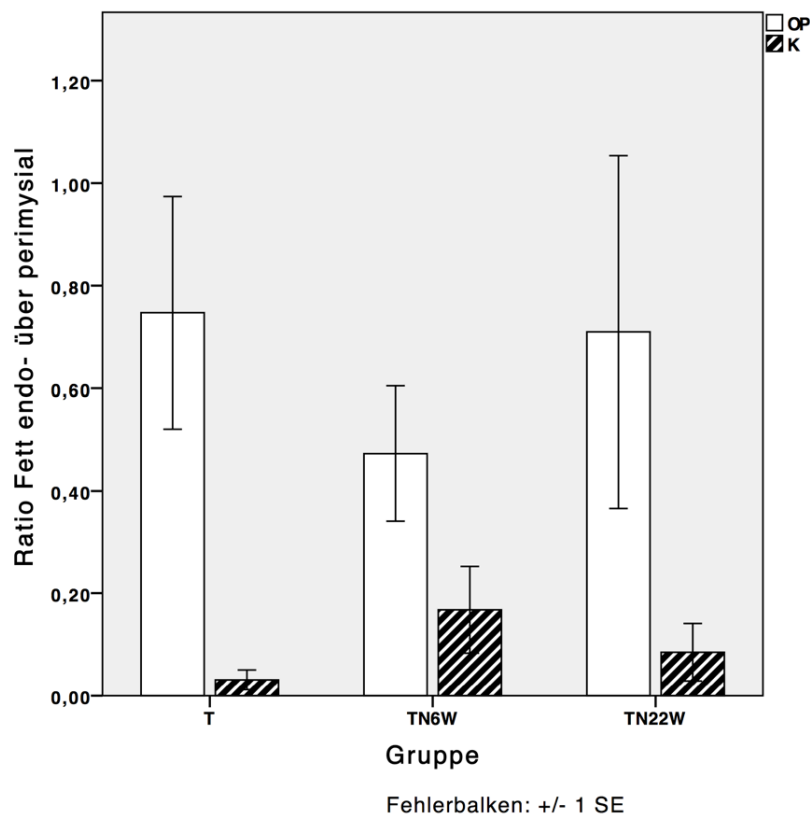


Abb. 43: Quotient aus endo- und perimysialem Fettgehalt; Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

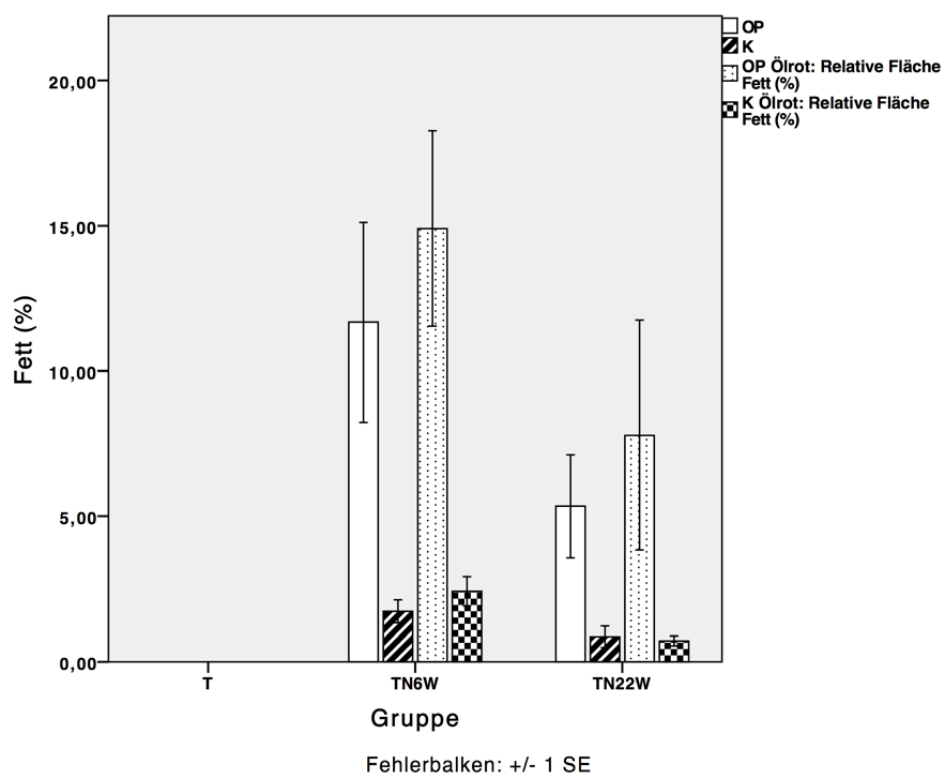


Abb. 44: Vergleich des Gesamtfettgehaltes (%) der Immunhistochemie- (IHC) und Ölrotschnitte (OR); Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

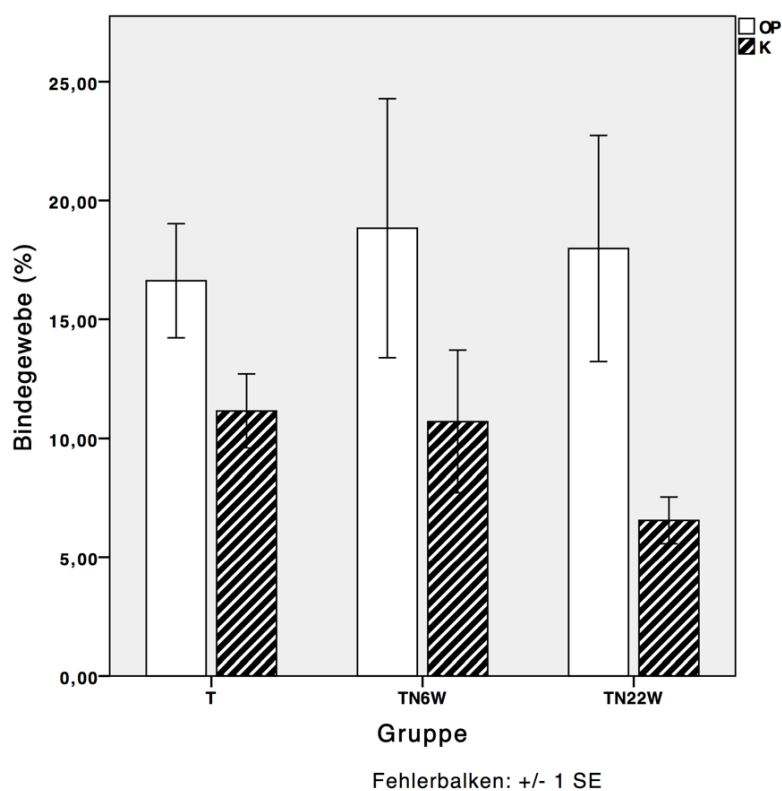


Abb. 45: Bindegewebeanteil der Biopsiestelle (%); Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

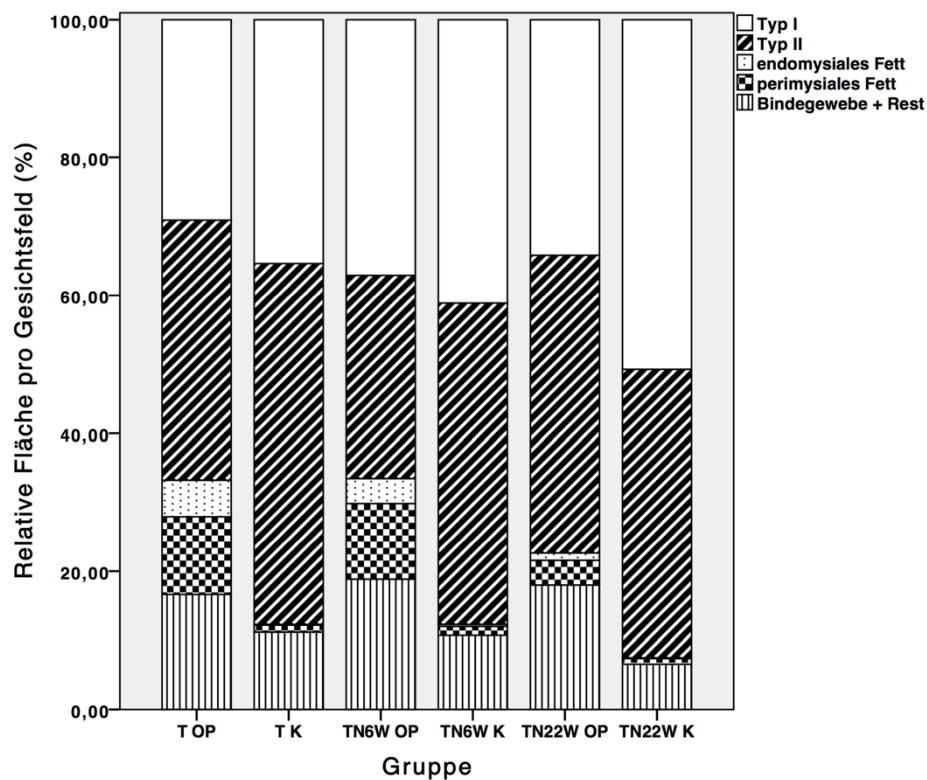


Abb. 46: Übersicht Histomorphometrie (%), Vergleich der einzelnen Gewebetypanteile (Typ I-, Typ II-Fasern, endomysiales Fett, perimysiales Fett, Bindegewebe) der Biopsiestelle

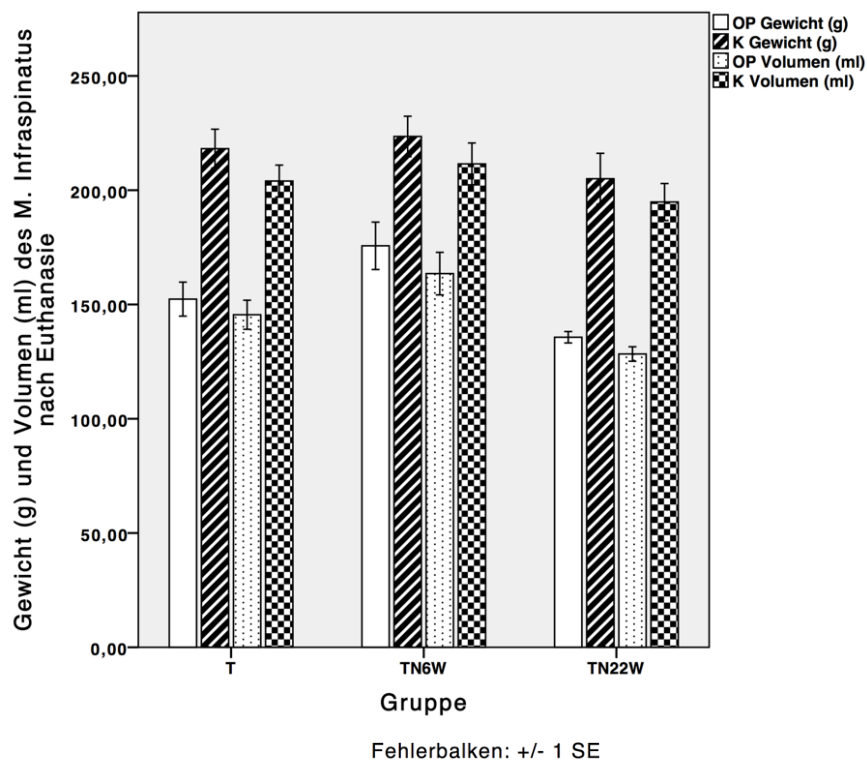


Abb. 47: Gewicht (g) und Volumen (ml) der M. infraspinati nach chirurgischer Entnahme; Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

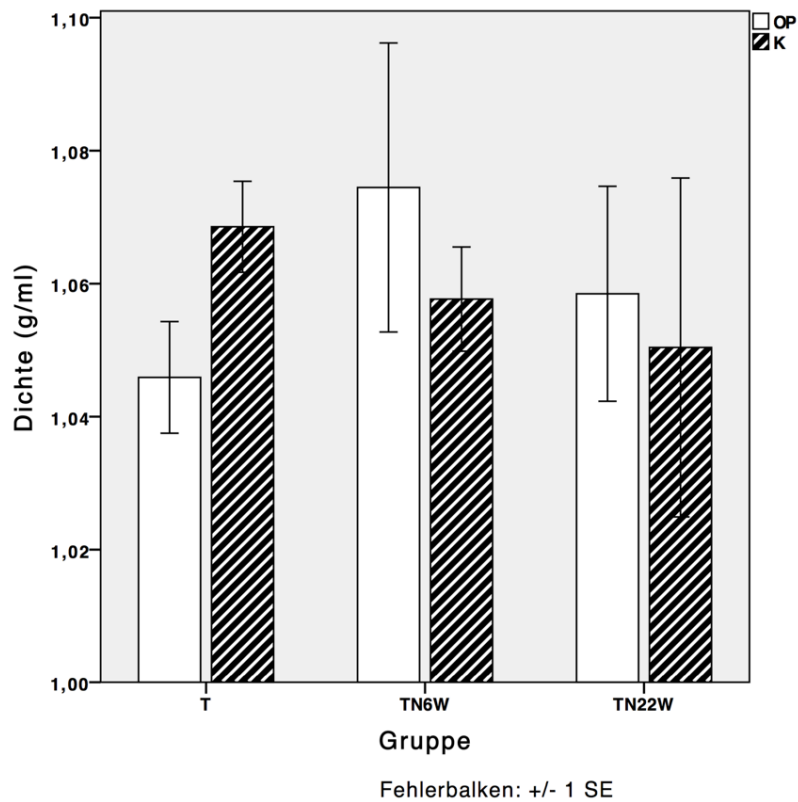


Abb. 48: Dichte der Infraspinatusmuskel (g/ml); Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

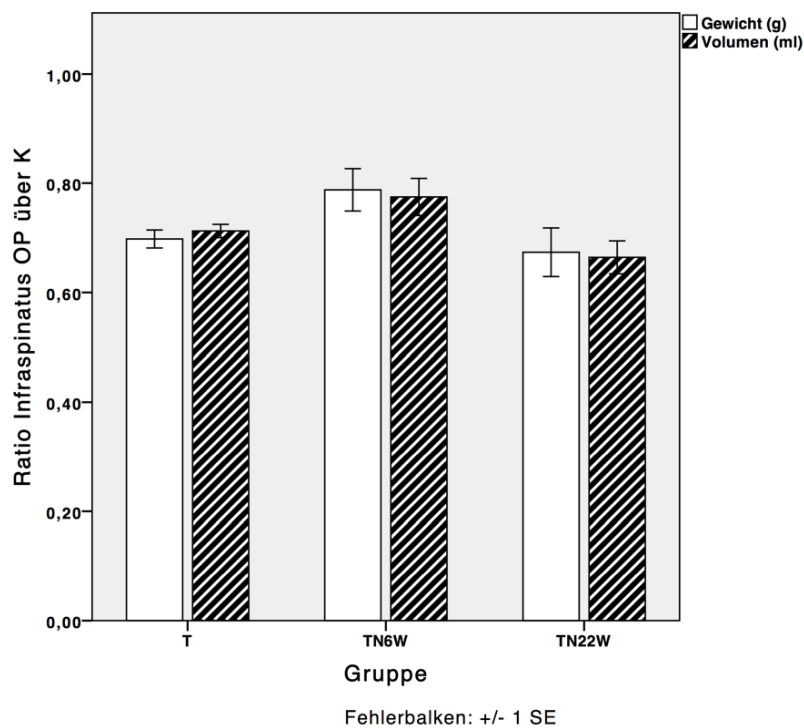


Abb. 49: Quotient der Interventions- und Kontralateralseite bezogen auf Gewicht (g) und Volumen (ml) der M. infraspinati nach chirurgischer Entnahme

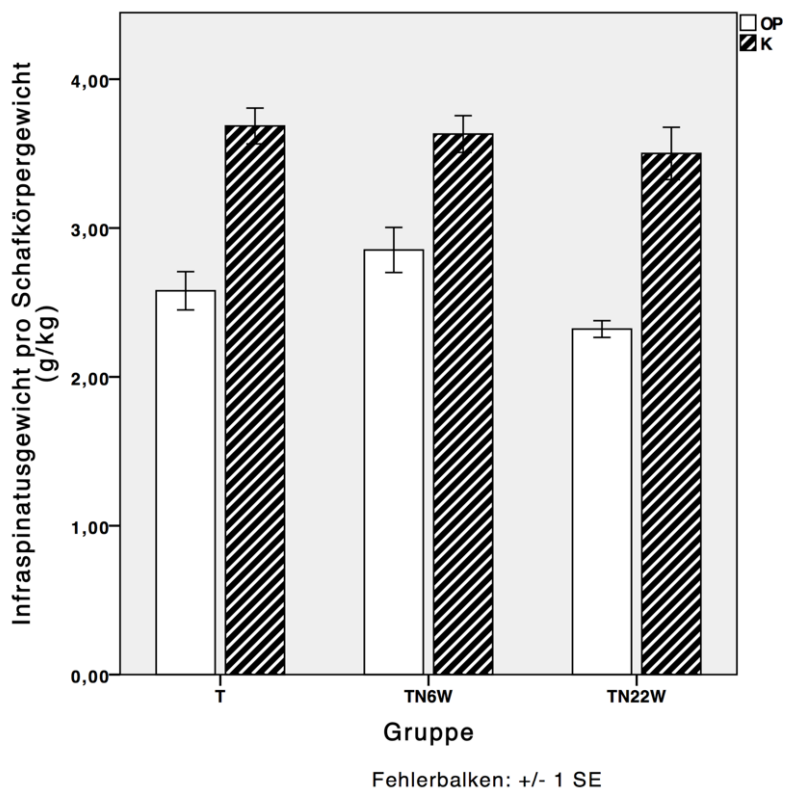


Abb. 50: ISP Gewicht in Relation zum Körpergewicht (g/kg KGW); Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

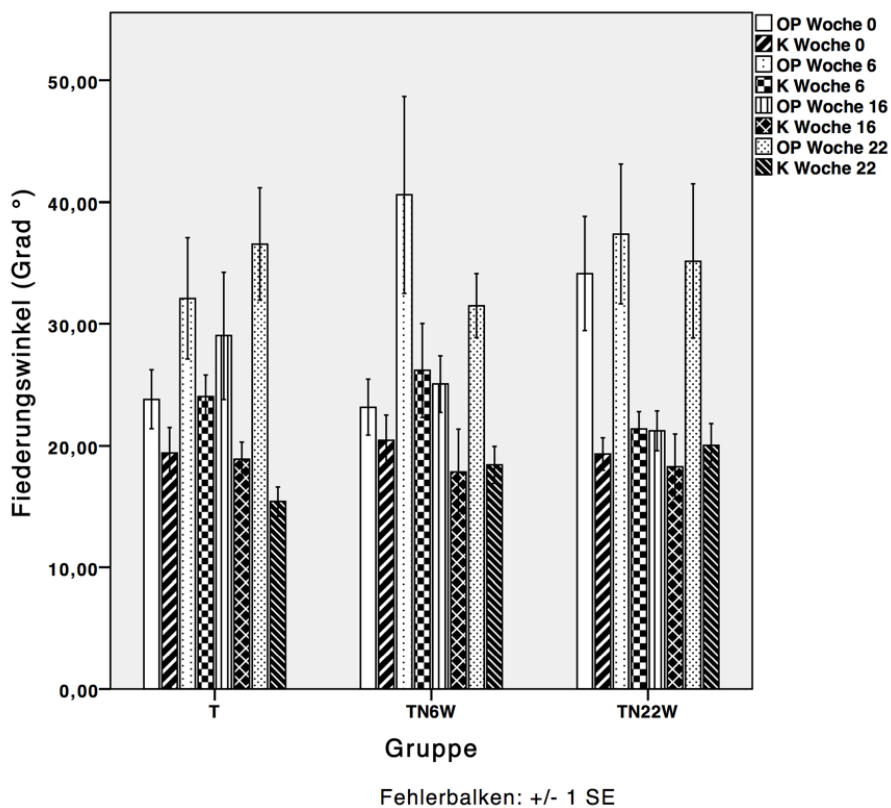


Abb. 51: Fiederungswinkel (Grad °) bei Woche 0, Woche 6, Woche 16 und Woche 22; Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

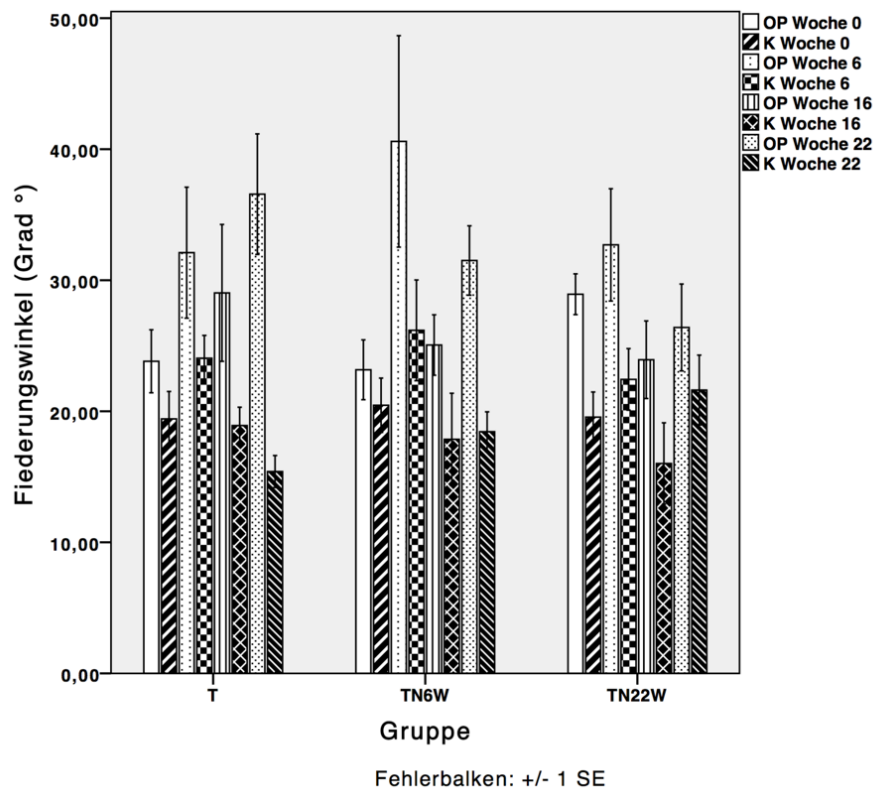


Abb. 52: Fiederungswinkel (Grad °) exkl. Ausreisser 29.14 und 29.16 bei Woche 0, Woche 6, Woche 16 und Woche 22; Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

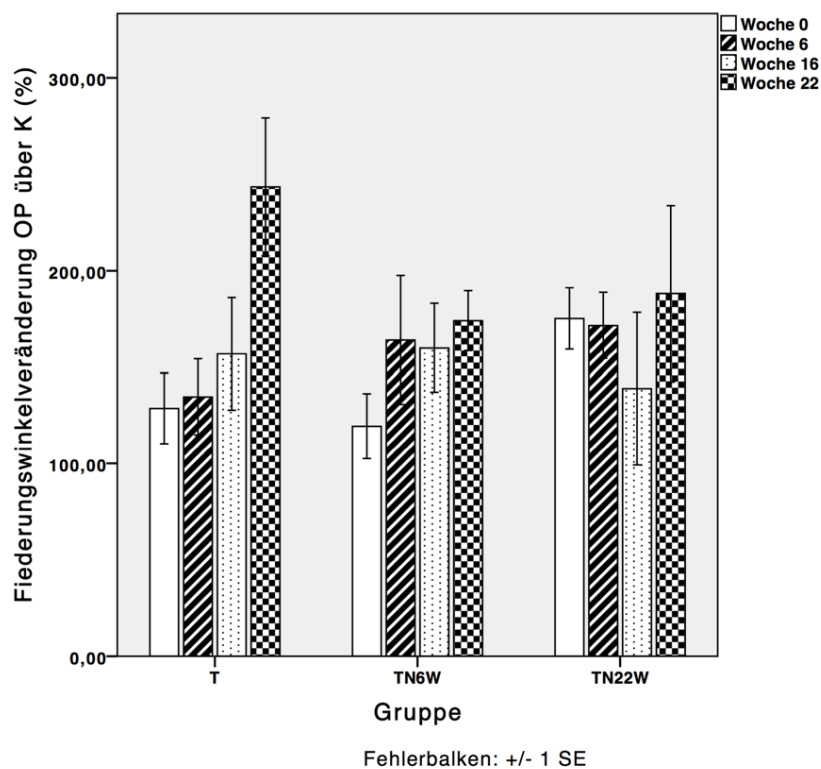


Abb. 53: Vergleich der Fiederungswinkel der Interventionsseite (OP) über der Kontralateralseite (K) bei Woche 0, Woche 6, Woche 16 und Woche 22 (%)

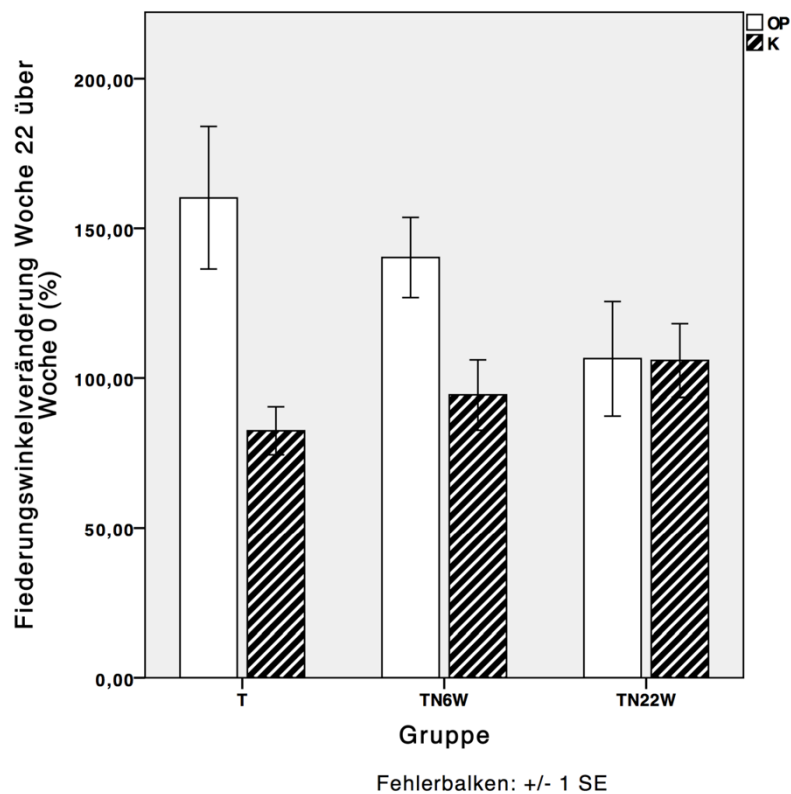


Abb. 54: Fiederungswinkelveränderung von Woche 0 zu Woche 22 (%); Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

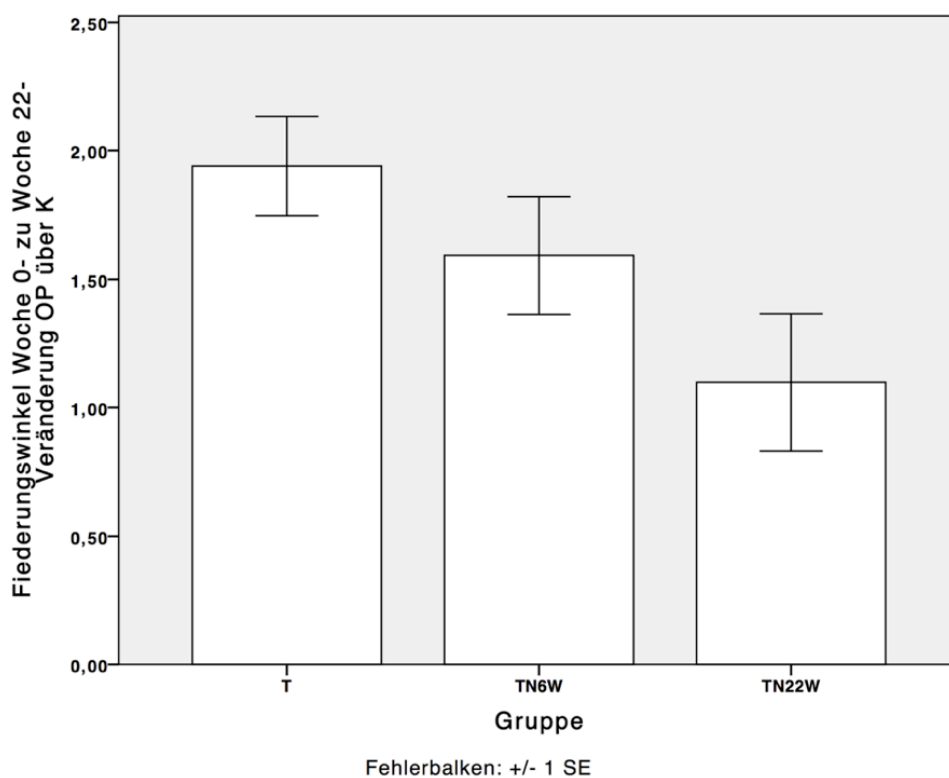


Abb. 55: Quotient aus Interventions- (OP) über Kontralateralseite (K) der Fiederungswinkel Woche 0- zu Woche 22-Veränderung (vgl. Abb. 54)

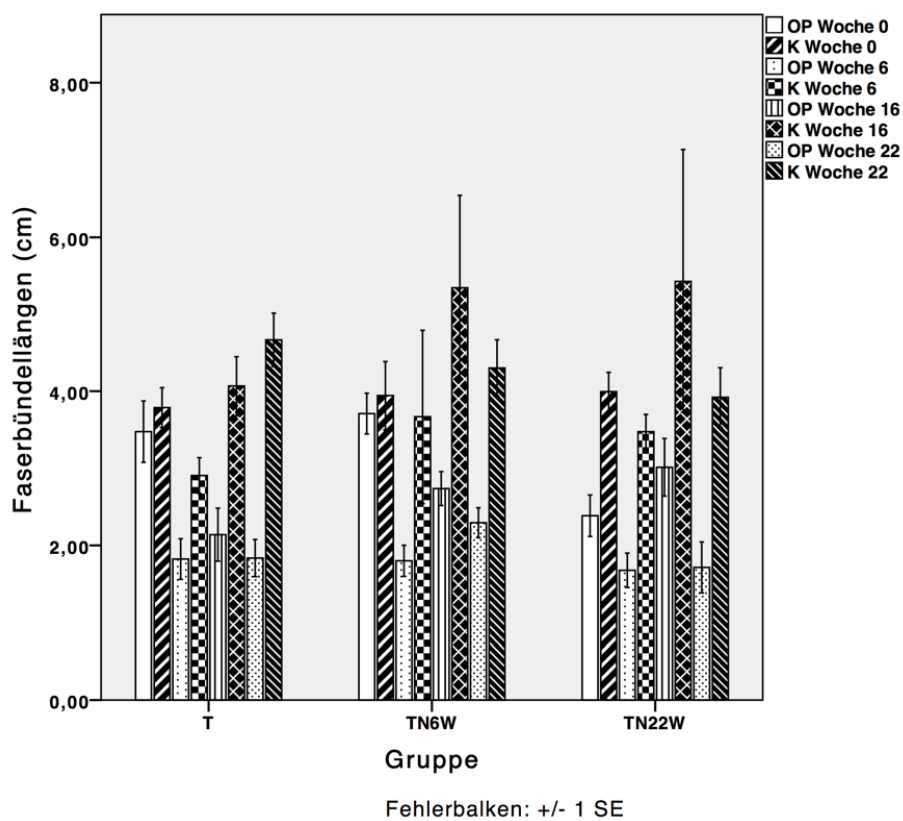


Abb. 56: Faserbündellängen (cm) bei Woche 0, Woche 6, Woche 16 und Woche 22; Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

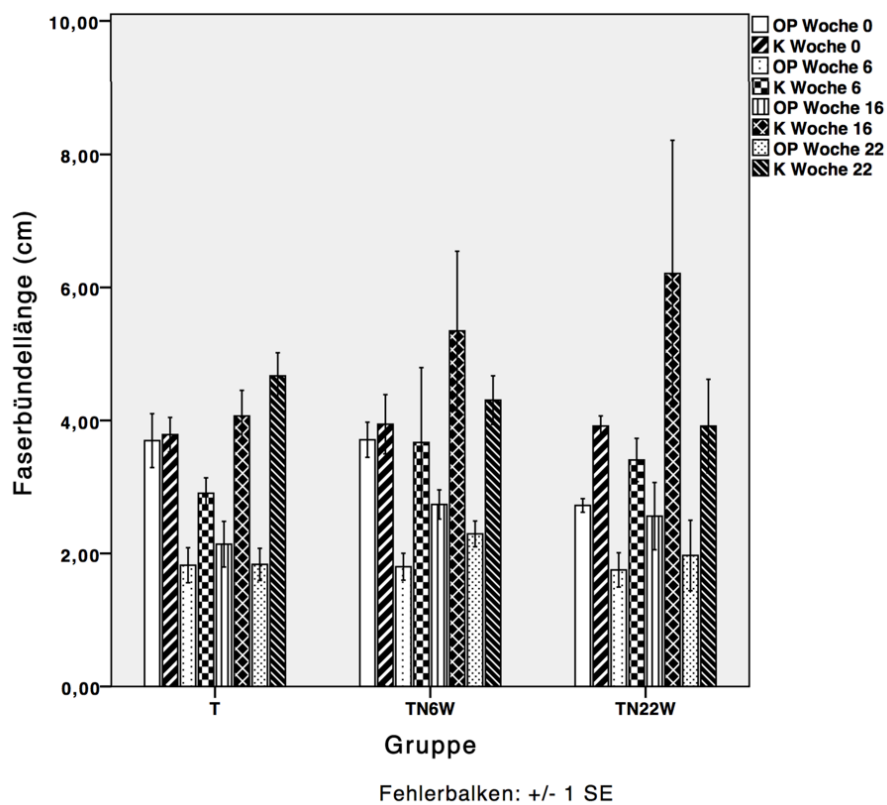


Abb. 57: Faserbündellängen (cm) exkl. Ausreisser 29.14 und 29.16 bei Woche 0, Woche 6, Woche 16 und Woche 22; Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

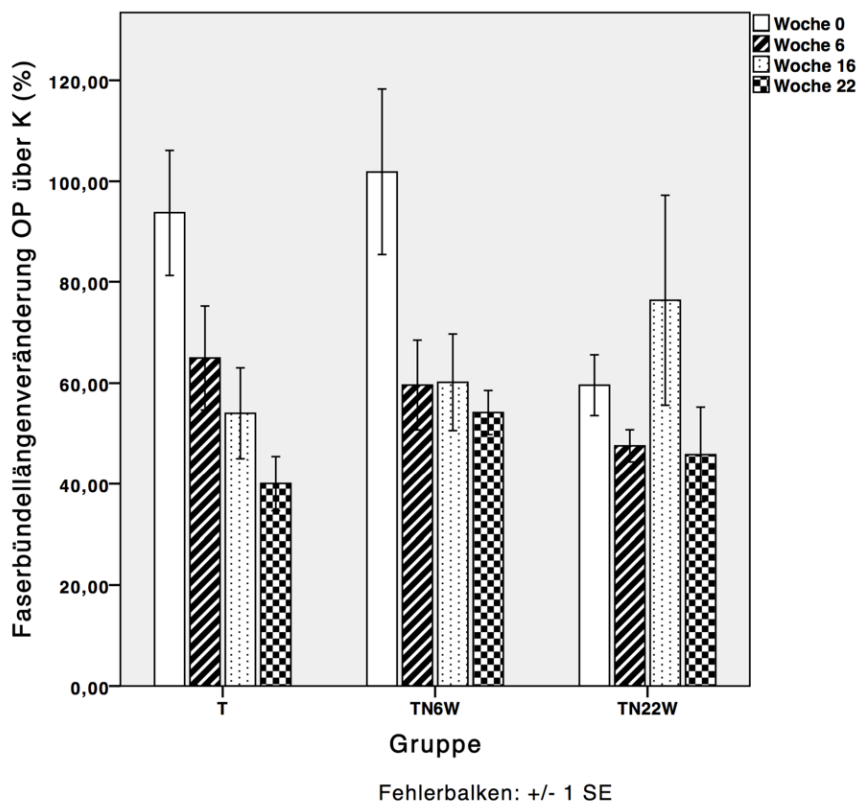


Abb. 58: Vergleich der Faserbündellängen der Interventionsseite (OP) über der Kontralateralseite (K) bei Woche 0, Woche 6, Woche 16 und Woche 22 (%)

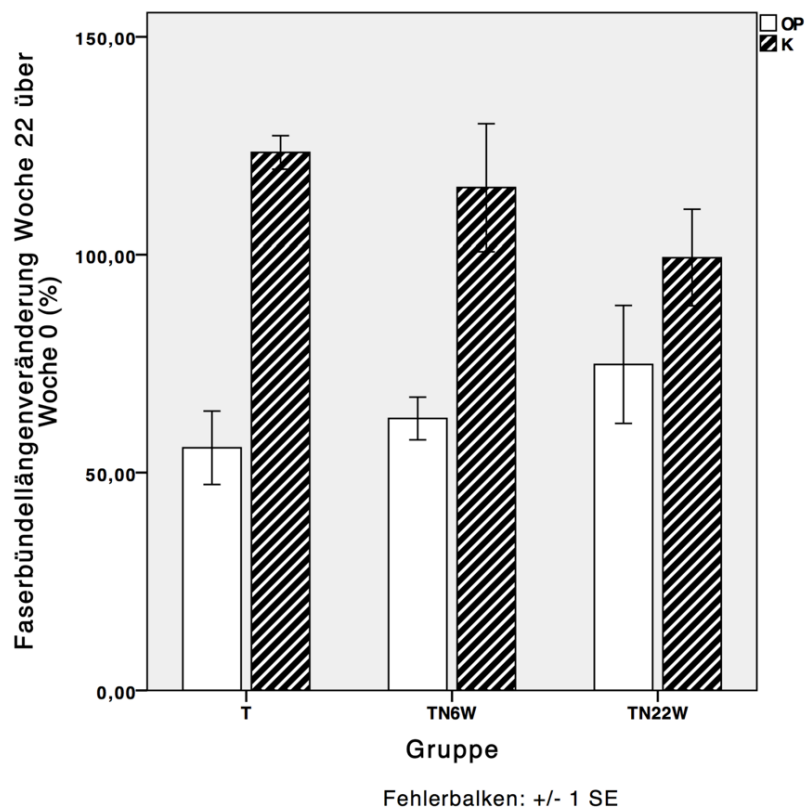


Abb. 59: Faserbündellängenveränderung von Woche 0 im Vergleich zu Woche 22 (%); Interventions- (OP) und Kontralateralseite (K)

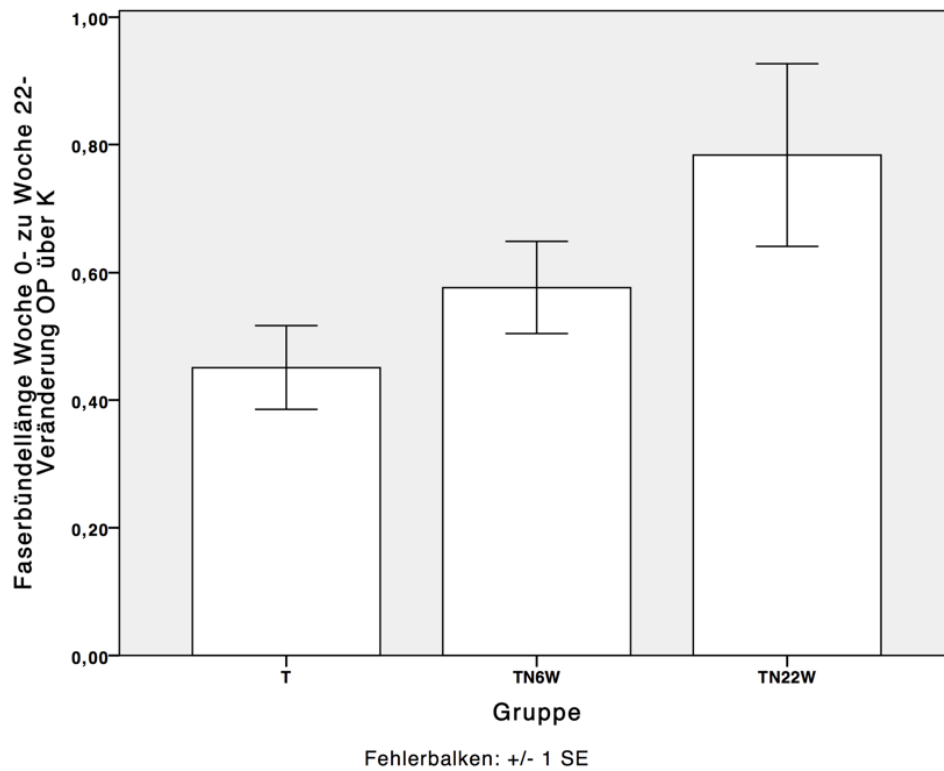


Abb. 60: Quotient aus Interventions- (OP) über Kontralateralseite (K) der Faserbündellängen Woche 0- zu Woche 22-Veränderung

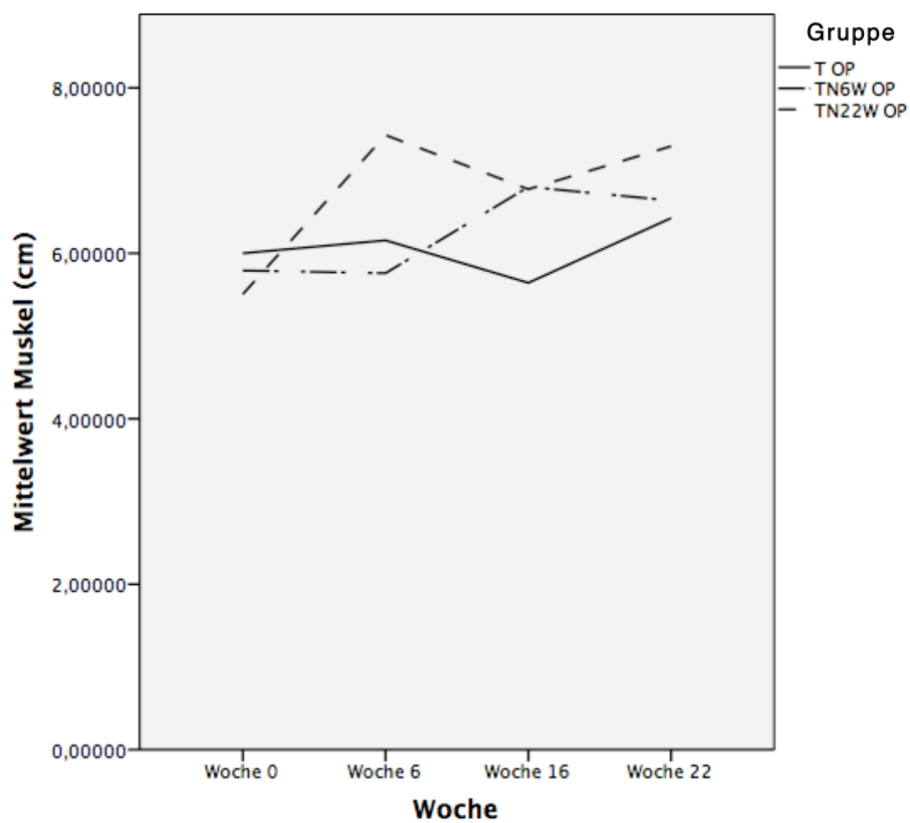


Abb. 61: Abstand zwischen distaler Infaspinatusgrenze und dorsalen Rand des Humeruskopfes (cm)

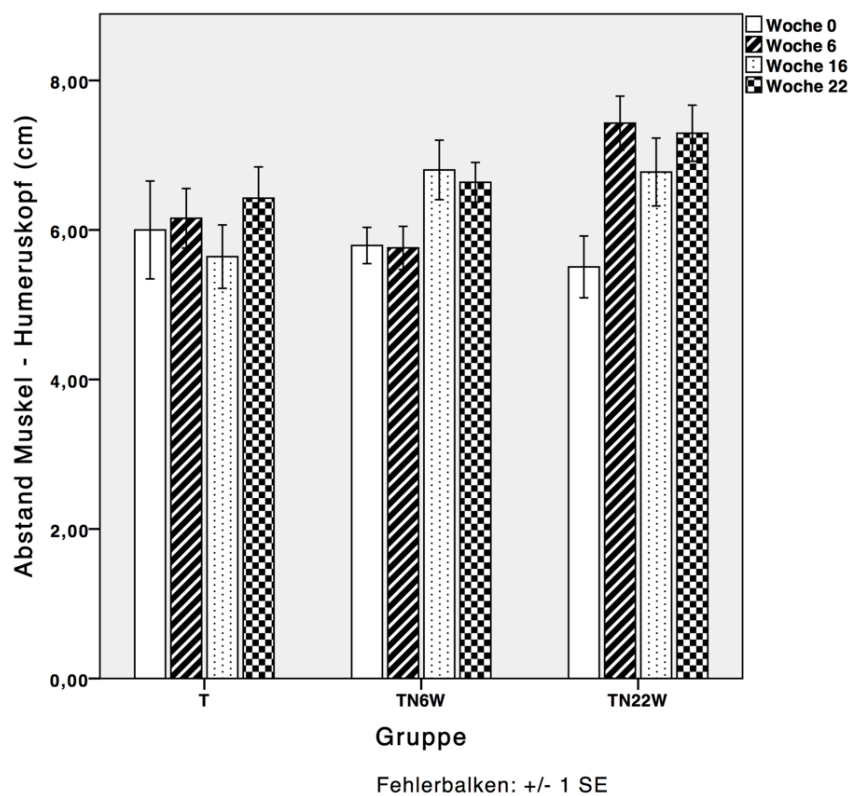


Abb. 62: Abstand zwischen distaler Infaspinatusgrenze und dorsalen Rand des Humeruskopfes pro Gruppe (cm)

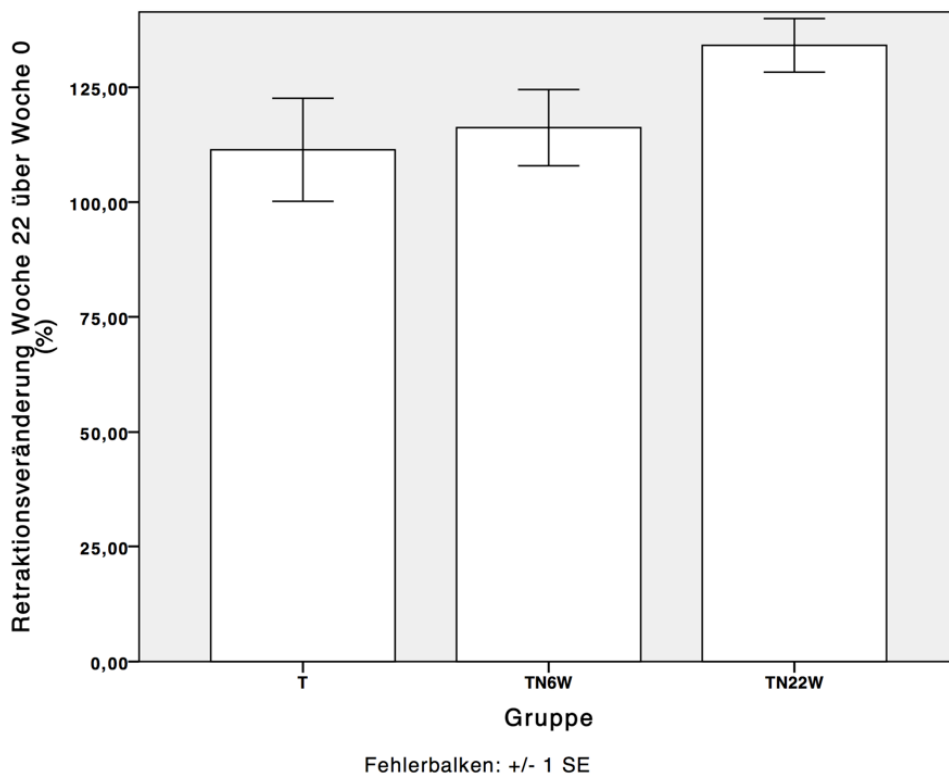


Abb. 63: Retraktionsveränderung von Woche 0 im Vergleich zu Woche 22 (cm)

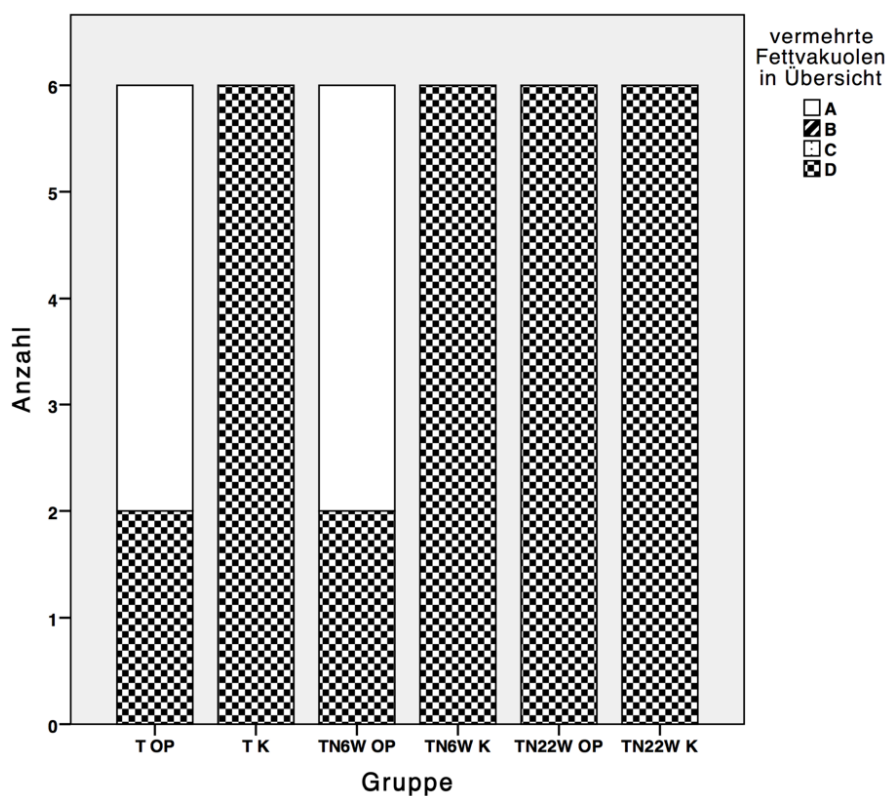


Abb. 64: Qualitative Beurteilung – Merkmal: vermehrte Fettvakuolen in Übersichtsvergrößerung, Häufigkeit (Anzahl der Tiere pro Gruppe); A = Merkmal liegt in 3 ROI vor, B = Merkmal liegt in 2 ROI vor, C = Merkmal liegt in 1 ROI vor, D = Merkmal liegt in keinem ROI vor

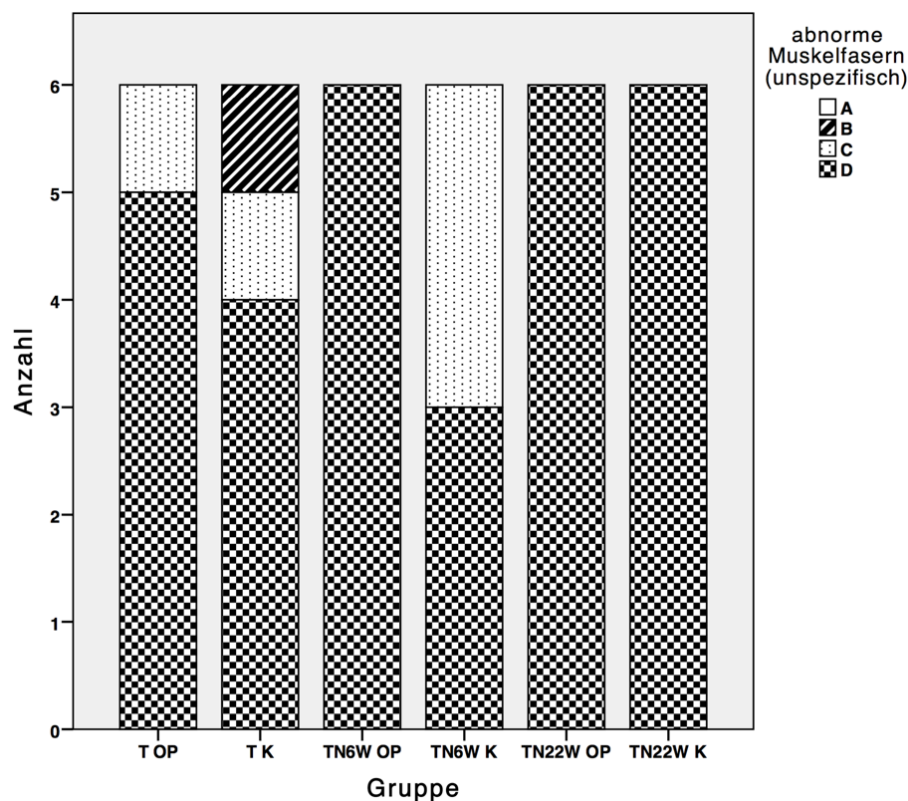


Abb. 65: Qualitative Beurteilung – Merkmal: abnorme Muskelfasern (Typ unspezifisch), Häufigkeit (Anzahl der Tiere pro Gruppe); A = Merkmal liegt in 3 ROI vor, B = Merkmal liegt in 2 ROI vor, C = Merkmal liegt in 1 ROI vor, D = Merkmal liegt in keinem ROI vor

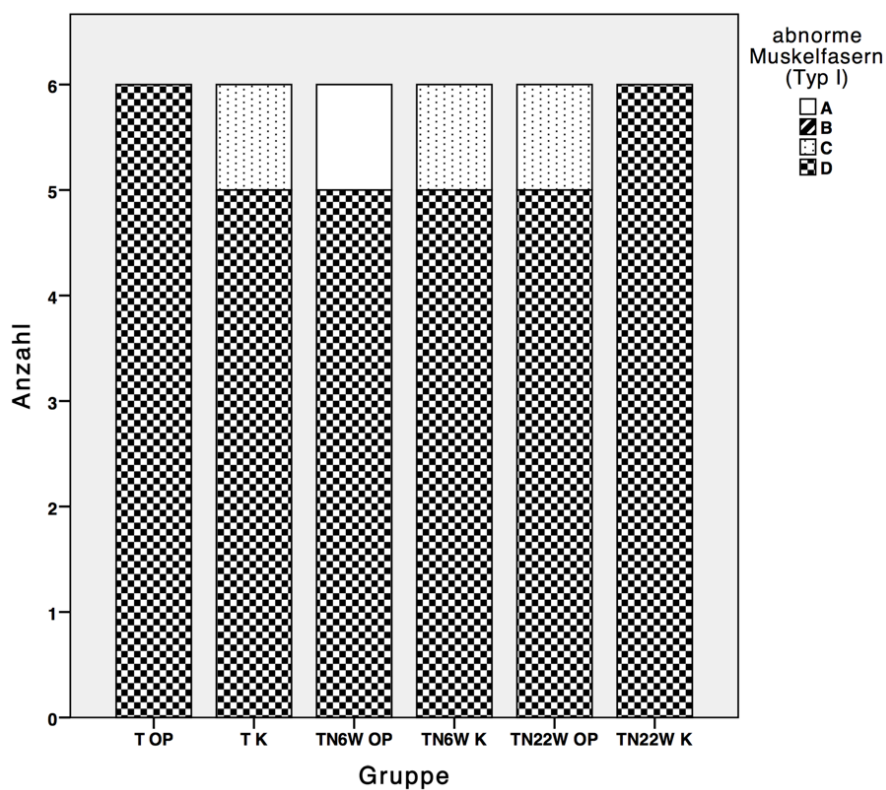


Abb. 66: Qualitative Beurteilung – Merkmal: abnorme Typ I-Muskelfasern, Häufigkeit (Anzahl der Tiere pro Gruppe); A = Merkmal liegt in 3 ROI vor, B = Merkmal liegt in 2 ROI vor, C = Merkmal liegt in 1 ROI vor, D = Merkmal liegt in keinem ROI vor

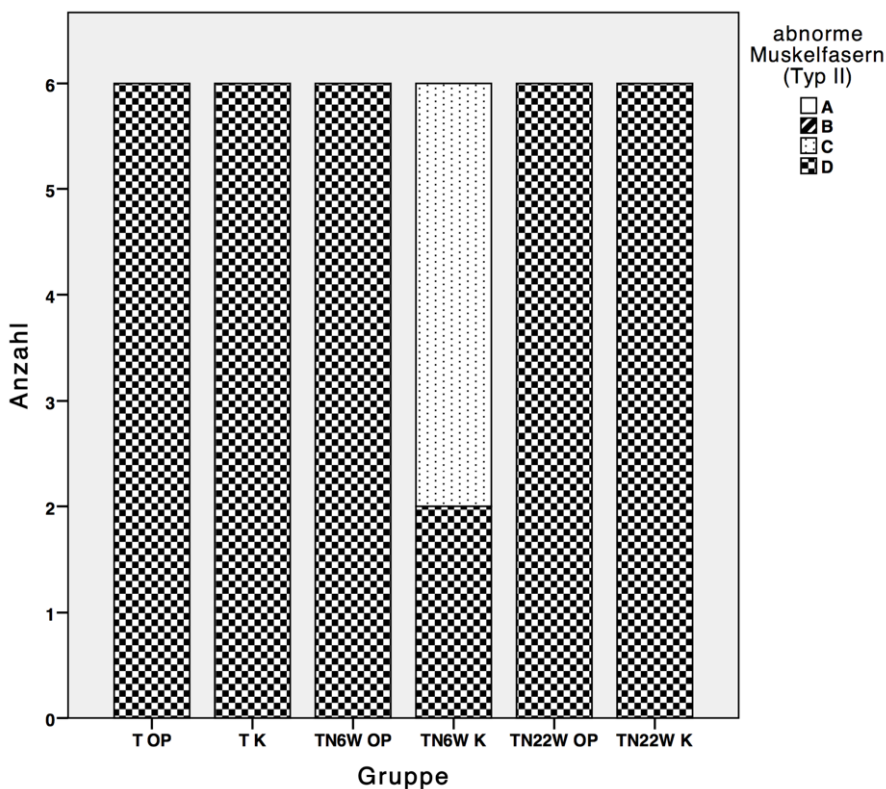


Abb. 67: Qualitative Beurteilung – Merkmal: abnorme Typ II-Muskelfasern, Häufigkeit (Anzahl der Tiere pro Gruppe); A = Merkmal liegt in 3 ROI vor, B = Merkmal liegt in 2 ROI vor, C = Merkmal liegt in 1 ROI vor, D = Merkmal liegt in keinem ROI vor

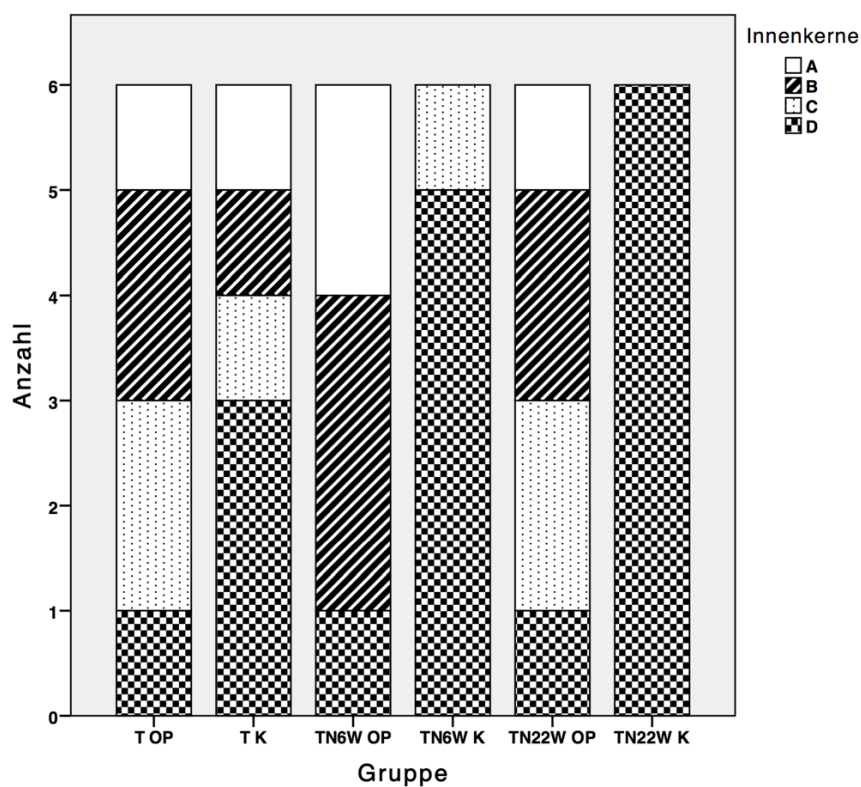


Abb. 68: Qualitative Beurteilung – Merkmal: Innenkerne, Häufigkeit (Anzahl der Tiere pro Gruppe); A = Merkmal liegt in 3 ROI vor, B = Merkmal liegt in 2 ROI vor, C = Merkmal liegt in 1 ROI vor, D = Merkmal liegt in keinem ROI vor

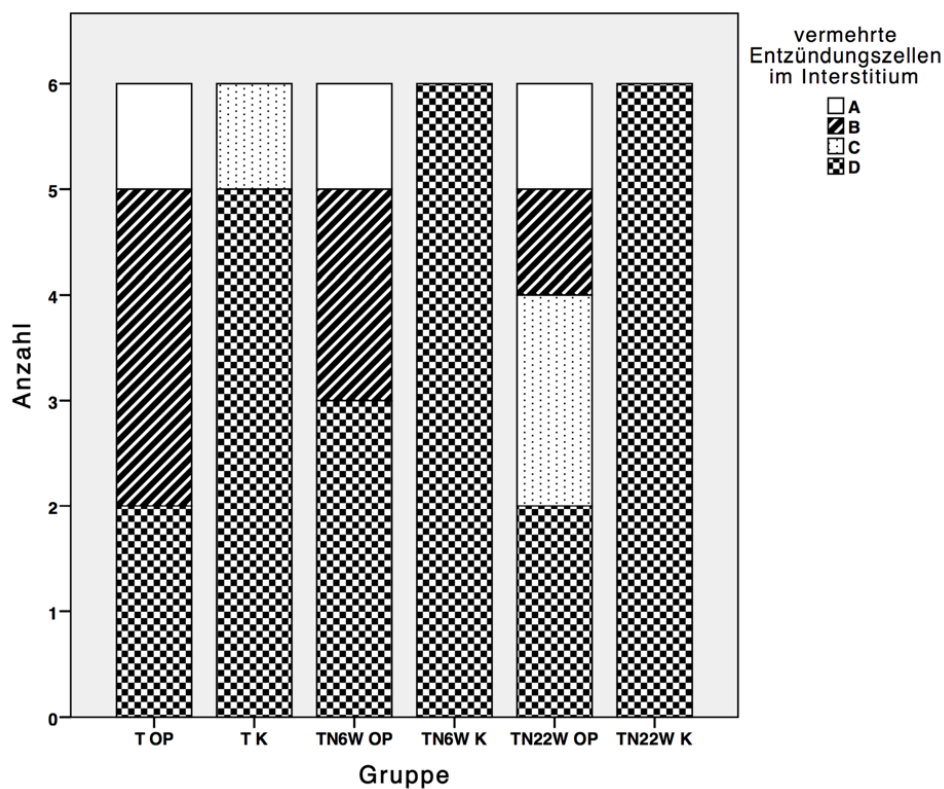


Abb. 69: Qualitative Beurteilung – Merkmal: Entzündungszellen im Interstitium, Häufigkeit (Anzahl der Tiere pro Gruppe); A = Merkmal liegt in 3 ROI vor, B = Merkmal liegt in 2 ROI vor, C = Merkmal liegt in 1 ROI vor, D = Merkmal liegt in keinem ROI vor

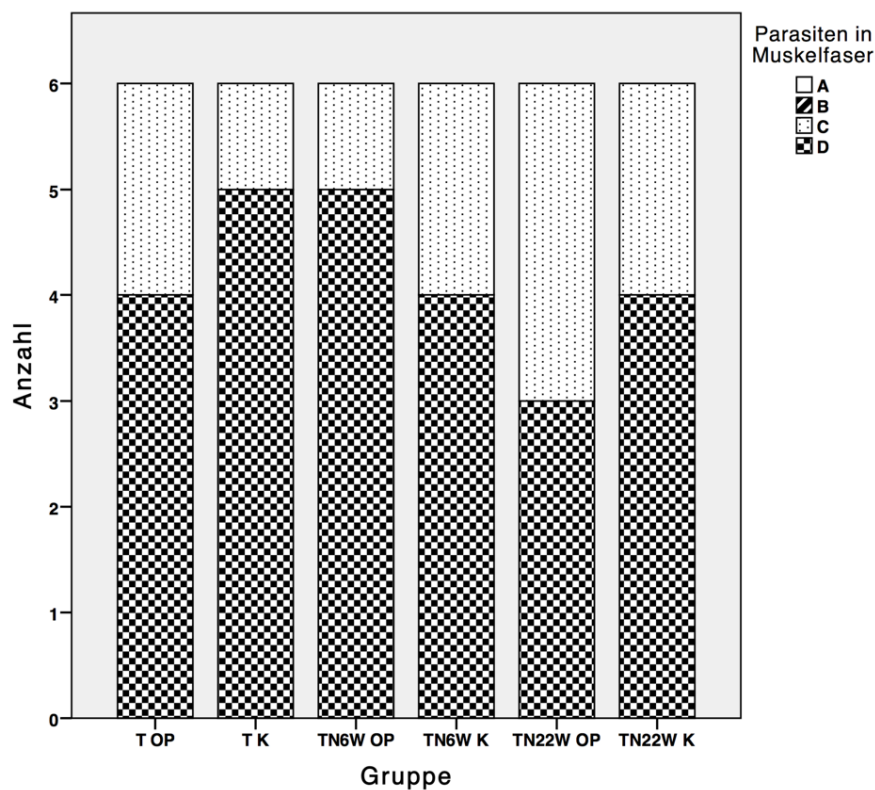


Abb. 70: Qualitative Beurteilung – Merkmal: Parasiten in Muskelfaser, Häufigkeit (Anzahl der Tiere pro Gruppe); A = Merkmal liegt in 3 ROI vor, B = Merkmal liegt in 2 ROI vor, C = Merkmal liegt in 1 ROI vor, D = Merkmal liegt in keinem ROI vor

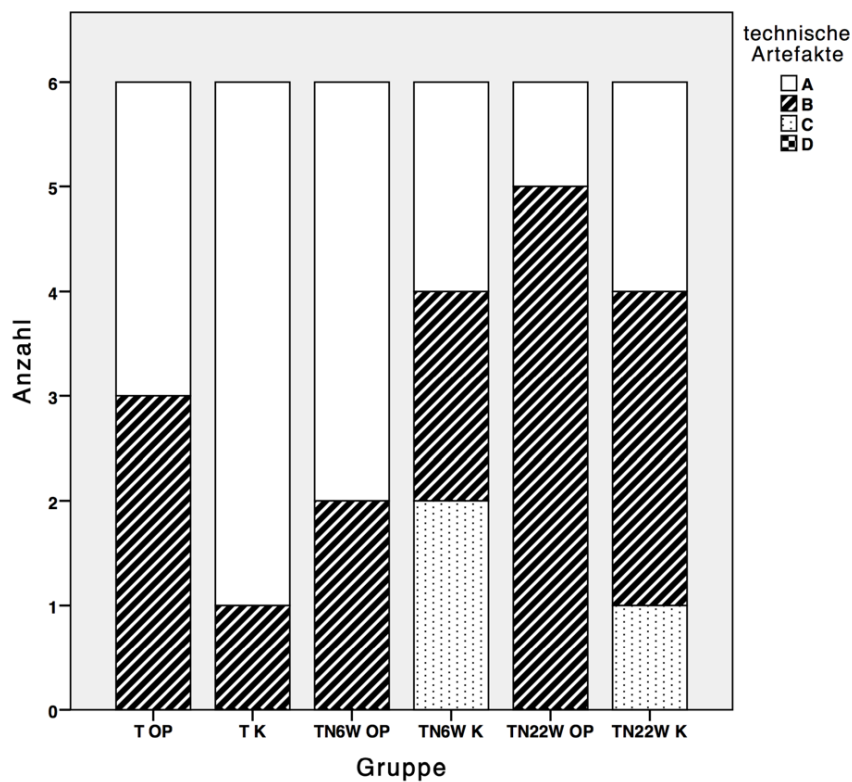


Abb. 71: Qualitative Beurteilung – Merkmal: technische Artefakte, Häufigkeit (Anzahl der Tiere pro Gruppe); A = Merkmal liegt in 3 ROI vor, B = Merkmal liegt in 2 ROI vor, C = Merkmal liegt in 1 ROI vor, D = Merkmal liegt in keinem ROI vor

Danksagung

Mein besonders herzlicher Dank gilt **Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg** für die freundliche Aufnahme in die Musculoskeletal Research Unit, die Überlassung des Dissertationsthemas, die stetige Unterstützung, das entgegengebrachte Vertrauen und die gewährte wissenschaftliche Freiheit sowie die vielen wertvollen Anregungen in dieser spannenden Phase. Besonders unsere fachlichen und persönlichen Gespräche bereicherten mich sehr und ermöglichten die Entwicklung zahlreicher neuer Perspektiven und dafür danke ich ihr von Herzen.

Daneben danke ich **Prof. Dr. med. Christian Gerber**, Ärztlicher Direktor und Chefarzt Orthopädie der Universitätsklinik Balgrist, für die Leitung der Studie und die Finanzierung des Projekts sowie **Prof. Dr. med. Dominik Meyer**, leitender Arzt der Schulter- und Ellbogenchirurgie, für die Zweitkorrektur sowie die Übernahme des Korreferats.

Ergänzend möchte ich mich sowohl bei **Prof. Dr. med. Dominik Meyer** als auch bei **Dr. med. Karl Wieser** für die freundschaftliche Zusammenarbeit, die konstruktiven Hilfestellungen beim Studienaufbau und der Auswertung sowie für den Einsatz bei den chirurgischen Eingriffen herzlich bedanken.

Ausserdem möchte ich mich ganz besonders herzlich bei **Dr. med. vet. Flurina Clement Frey, PhD** bedanken, da sie mir während meiner Promotionszeit in vielen wissenschaftlichen wie auch persönlichen Belangen mit Rat und Tat zur Seite stand. Dank ihrer hohen fachlichen Kompetenz und ihrer motivierend strukturierten Anleitung eröffnete sie mir die Faszination für die Zellkultur, die meine Entwicklung wesentlich geprägt hat und noch weiter beeinflussen wird.

Prof. Martin Flück, PhD danke ich besonders für die hilfreichen Ratschläge zur histologischen Auswertung, die vielen bereichernden Diskussionen sowie seine naturwissenschaftliche Genauigkeit, die für mich vorbildhaft war und mich sehr fasziniert.

Ein grosses Dankeschön gilt **Dr. med. vet. Karina Klein, PhD** für ihre Unterstützung bei den chirurgischen Eingriffen und der Anästhesie sowie für ihre grosse Hilfsbereitschaft, die mir mein Projektmanagement sehr erleichterte.

Herzlich bedanken möchte ich mich auch beim ganzen Anästhesieteam **Dr. med. vet. Peter Kronen, Dr. med. vet. Isabelle Iff, Dr. med. vet. Svende Pfundstein, Dr. med. vet. Anika Drechsler, Dr. med. vet. Dagmar Verdino** und **Cindy Coutaz** für die freudestiftende und vor allem wirkungsvolle Zusammenarbeit.

Prof. Dr. med. vet. Patrick Kircher und **Dr. med. vet. Matthias Dennler** sowie den technischen Mitarbeitern **Claudia di Giovanna**, **Mike Patthey** und **Peter Hofer** danke ich für die Durchführung der Bildgebungsverfahren und die hilfreiche Beantwortung meiner Fragen zur radiologischen Auswertung.

Für die Kollegialität, die unkomplizierten Hilfen, die nette Zusammenarbeit, die zielführenden Diskussionen und vor allem die schöne gemeinsame Zeit bedanke ich mich bei dem gesamten Team der MSRU: **Dr. med. vet. Ramon Bucher**, **Dr. med. vet. Flurina Clement Frey, PhD**, **Salim Darwiche, PhD**, **Dr. med. vet. Anika Drechsler**, **Ladina Ettinger-Fergusson**, **Julia Freudenhammer**, **Lea Gegner**, **Alexandra Grob, MSc**, **Dr. med. vet. Irem Gul Sancak**, **Florian Hipp**, **Käthi Kämpf**, **Dr. med. vet. Agnieszka Karol**, **Philipp Kindt**, **Dr. med. vet. Karina Klein, PhD**, **Sabine Koch, PhD**, **Dr. med. Michael Künzler**, **Aymone Lenisa**, **Dr. med. vet. Lena Müller**, **Dr. med. vet. Katja Nuss**, **Jolanta Plihal**, **Valentin Reichle**, **Nadja Saddedine**, **Sophie Schöberl**, **Ansgar Solecki**, **Dr. med. vet. Maren Stempel-Estelmann, PD Dr. med. dent. Stefan Stübinger**, **Sabina Wunderlin** und **Kati Zlinsky**.

Ergänzend zum vorherigen Abschnitt möchte ich mich besonders herzlich bedanken bei ...

... **Ladina Ettinger-Ferguson**, **Aymone Lenisa**, **Sabina Wunderlin** und **Kati Zlinsky** für ihre stete Hilfe rund um die histologische Präparation sowie speziell bei **Ladina Ettinger-Ferguson** für ihre kreativen Lösungsansätze und den entsprechenden Weitblick bei Problemen verschiedenster Art.

... **Dr. med. vet. Ramon Bucher** für die erhellende Unterstützung bei der Statistik, den nachhaltigen Unterricht im Programmieren, die unzählbaren professionellen Impulse sowie die facettenreichsten Gespräche.

... **Alexandra Grob, MSc** für ihre zuverlässige und umfangreiche Unterstützung bei der histomorphometrischen Auswertung.

... **Dr. med. vet. Anika Drechsler** für ihren bedeutenden Einsatz bei der Versuchsdurchführung und die besonders angenehme Zusammenarbeit.

... **Dr. med. vet. Agnieszka Karol** für die Hilfestellungen bei der pathohistologischen Befundung und ihre immer gute Laune, die eine wahre Bereicherung war und ist.

... **Dr. med. vet. Maren Stempel-Estelmann** für die unkomplizierteste Zusammenarbeit und die wunderbar ansteckende Fröhlichkeit, die mich ausserordentlich motivierte.

... **Dr. med. Michael Künzler** für die vielen weiterführenden Diskussionen über unsere Projekte und insbesondere für seine Ratschläge zur statistischen Auswertung.

... **Käthi Kämpf** für ihren äusserst klaren Blick bei sämtlichen Organisationen rund um Tier und Mensch. Besonders ihre kompetente Unterstützung bei den Arbeiten am Tier sowie ihren hilfreichen Rat habe ich stets sehr geschätzt.

... **Silvana Ressegatti** für ihren fürsorglichen Einsatz bei der Pflege meiner Schafe im Stall.

Des Weiteren möchte ich mich bei den Tier- und OP-Pflegern **Michael Bless, Chantal Baumgartner, Jasmine Nauer, René Kissling** und **Urs Möri** sowie den Chauffeuren des Tiertransportes **Alois Merkle, Markus Kämpf** und **Martin Schönthal** für die Unterstützung, die gute Zusammenarbeit und das freundliche Miteinander bedanken.

Sabine Koch, PhD und **Iris Wüthrich** danke ich für die Einführung in die Prinzipien des GLP und die zahlreichen Weiterbildungen.

Ebenfalls möchte ich mich herzlich bei **PD Peter J. Richards, PhD, Silke Kalchofner-Mark, PhD, André N. Tiaden, PhD, Ali Mirsaidi, PhD, Gregor Bahrenberg** und **Stephan Glanz** für ihren wissenschaftlichen Einfluss im Zellkulturlabor sowie im Journal Club (CABMM) bedanken.

Daneben möchte ich **Agnieszka Ksiazek** herzlich für die kompetente und zielgerichtete Einführung in diverse Zellkulturtechniken danken.

Rainer Egle und **Dr. med. vet. Karina Klein, PhD** danke ich für die IT-Betreuung und den schnellen Einsatz bei Computerproblemen.

David Meier danke ich für die hilfreiche Beantwortung meiner Statistik-Spezialfragen.

Ein grosses Dankeschön gilt auch **Familie Knüsel**, die uns stets herzlich bei unseren Schafherden im Fricktal empfangen haben.

Zu guter Letzt möchte ich mich herzlichst bei **meinen Eltern, meinem Bruder, meinen Grosseltern** sowie **meiner Freundin** für ihre liebevolle Fürsorge und bedingungslose Unterstützung bedanken, die mir in jeder Lebenslage sicher war.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Mario Christian Benn
Geburtsdatum: 04.08.1985
Geburtsort: Hanau, Deutschland
Nationalität: deutsch

Ausbildung

12/2012 – heute Promotionsstudium unter Leitung von Frau Prof. Dr.
Brigitte von Rechenberg, Leiterin Musculoskeletal Research
Unit (MSRU), Departement für Pferde, Vetsuisse-Fakultät
Universität Zürich / CH
04/2012 – 07/2012 Hospitation, Surgical Oncology, AVAH, Ottawa / CA
10/2010 – 12/2010 College of Veterinary Medicine, University of Tennessee,
Knoxville / USA
10/2006 – 03/2012 Studium der Veterinärmedizin, Justus-Liebig-Universität
Giessen / D
08/1996 – 07/2005 Franziskanergymnasium Kreuzburg,
Grosskrotzenburg / D

Berufserfahrung

12/2012 – heute Doktorand, Musculoskeletal Research Unit (MSRU) und
Center for Applied Biotechnology and Molecular Medicine
(CABMM), Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich / CH
10/2005 – 12/2008 Rettungssanitäter, Deutsches Rotes Kreuz,
Hanau / D
